(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2023年4月20日(20.04.2023)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2023/063033 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 36/48 (2006.01) *A23L 33/17* (2016.01)
A23K 10/30 (2016.01) *A61P 3/04* (2006.01)
A23L 33/125 (2016.01) *A61P 21/00* (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2022/035034

(22) 国際出願日： 2022年9月20日(20.09.2022)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

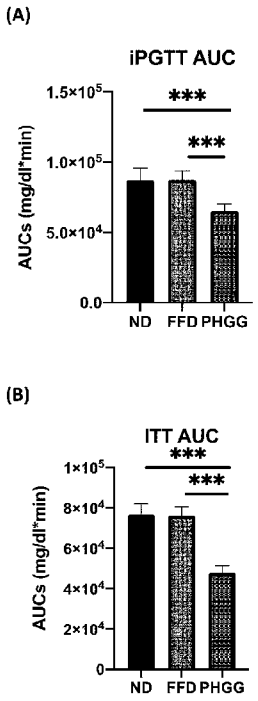
(30) 優先権データ：
特願 2021-167512 2021年10月12日(12.10.2021) JP

(71) 出願人: 太陽化学株式会社 (**TAIYOKAGAKU CO., LTD.**) [JP/JP]; 〒5121111 三重県四日市市山田町８００番 Mie (JP). 京都府公立大学法人 (**KYOTO PREFECTURAL PUBLIC UNIVERSITY CORPORATION**) [JP/JP]; 〒6028566 京都府京都市上京区河原町通広小路上る梶井町４６５番地 Kyoto (JP).

(72) 発明者: 濱口 真英 (**HAMAGUCHI, Masahide**); 〒6028566 京都府京都市上京区河原町通広小路上る梶井町４６５ 京都府公立大学法人 京都府立医科大学内 Kyoto (JP). 岡村 拓郎 (**OKAMURA, Takuro**); 〒6028566 京都府京都市上京区河原町通広小路上る梶井町４６５ 京都府公立大学法人 京都府立医科大学内 Kyoto (JP). 三浦 かつら (**MIURA, Katsura**); 〒6028566 京都府京都市上京区河原町通広小路上る梶井町４６５ 京都府公立大学法人 京都府立医科大学内 Kyoto (JP). 内藤 裕二 (**NAITO, Yuji**); 〒6028566 京都府京都市上京区河原町通広小路上る梶井町４６５ 京都府公立大学法人 京都府立医科大学内 Kyoto (JP). 福井 道明 (**FUKUI, Michiaki**); 〒6028566 京都府京都市上京区河原町通広小路上る梶井町４６５ 京都府公立大学法人 京都府

(54) **Title:** SARCOPENIC OBESITY INHIBITING COMPOSITION, AND PROPHYLACTIC AND/OR THERAPEUTIC COMPOSITION CONTAINING THE SAME FOR IMPROVING SARCOPENIC OBESITY INDUCED BY DIABETES

(54) 発明の名称： サルコペニア肥満抑制組成物、及びこれを含有し糖尿病によって誘導されたサルコペニア肥満を改善するための予防及び／又は治療用組成物



(57) **Abstract:** [Problem] To provide a novel sarcopenic obesity inhibiting composition, and a prophylactic and/or therapeutic composition containing the same for improving sarcopenic obesity induced by diabetes. [Solution] A sarcopenic obesity inhibiting composition containing (A) guar gum degradation products having an average molecular weight of 1.7×10^3 to 2.9×10^5, at least 70 mass% thereof being within this range, and (B) a guar bean protein, the viscosity of a 1 mass% aqueous solution of the composition being less than or equal to 50 mPa ・s as measured at 25 ° C and 60 rpm using a B-type viscometer, wherein the guar gum degradation products are contained in guar-derived endosperm and obtained by using microbe-derived β-mannanase to hydrolyze and reduce the molecular weight of galactomannan polysaccharide that has a galactose to mannose content ratio (galactose:mannose) in the range 1:1.5 to 1:2.1, the dietary fiber content, defined by the enzymatic-HPLC method, is at least 70 mass%, the content of oligosaccharides in the guar gum degradation products 15 mass% or less, among the amino acid compositions in the contained proteins, (glutamic acid + glutamine + aspartic acid + asparagine) ≥ 100 mg/100g, (cystine + tyrosine + serine + threonine) ≥ 40mg/100g, and all amino acids ≥ 150mg/100g, and the ratio (A)/(B) is 1000 or less.

WO 2023/063033 A1

［続葉有］

立医科大学内 Kyoto (JP). 安部 綾(**ABE, Aya**); 〒5121111 三重県四日市市山田町８００番 太陽化学株式会社内 Mie (JP). 小関 誠(**OZEKI, Makoto**); 〒5121111 三重県四日市市山田町８００番 太陽化学株式会社内 Mie (JP).

(74) 代理人: 小 林 洋 平 (**KOBAYASHI, Youhei**); 〒5110068 三重県桑名市中央町４丁目４４番地ウインズビル２階ケーワイ国際特許事務所 Mie (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告（条約第21条(3)）

(57) 要約：【課題】 新規なサルコペニア肥満抑制組成物、及びこれを含有し糖尿病によって誘導されたサルコペニア肥満を改善するためのサルコペニア肥満の予防及び／又は治療用組成物を提供すること。【解決手段】（Ａ）平均分子量が１．７×１０^{3}～２．９×１０^{5}、平均分子量の範囲内のものが７０質量％以上含まれるグアーガム分解物と（Ｂ）グアー豆タンパク質とを含有し、Ｂ型粘度計を用いて２５℃、６０ｒｐｍで測定したときの１質量％水溶液の粘度が５０ｍＰａ・ｓ以下のサルコペニア肥満抑制組成物であって、前記グアーガム分解物が、グアー由来の胚乳に含まれ、ガラクトースとマンノースの含量比率（ガラクトース：マンノース）が１：１．５～１：２．１の範囲であるガラクトマンナン多糖を微生物由来β－マンナナーゼを用いて加水分解し、低分子化することにより得られたものであり、酵素－ＨＰＬＣ法により規定される食物繊維含量を少なくとも７０質量％、グアーガム分解物のオリゴ糖の含有量が１５質量％以下であり、含有するタンパク質中のアミノ酸組成のうち（グルタミン酸＋グルタミン＋アスパラギン酸＋アスパラギン）≧100mg／100g、（シスチン＋チロシン＋セリン＋スレオニン）≧40mg／100g、かつ全アミノ酸≧150mg／100gであり、前記（Ａ）／（Ｂ）の比率が１０００以下であるサルコペニア肥満抑制組成物によって達成される。

明　細　書

発明の名称 ：

サルコペニア肥満抑制組成物、及びこれを含有し糖尿病によって誘導されたサルコペニア肥満を改善するための予防及び／又は治療用組成物

技術分野

[0001] 本発明は、サルコペニア肥満抑制組成物、及びこれを含有し糖尿病によって誘導されたサルコペニアを改善するための予防及び／又は治療用組成物などに関する。

背景技術

[0002] ヒトは、加齢や疾患によって、骨格筋量の減少、筋力の低下を起こすことがある。この現象を「サルコペニア」と称している。サルコペニアは、ギリシャ語で筋肉を意味する「サルコ」と、減少を意味する「ペニア」とを組み合わせた造語である。サルコペニアは、安静時エネルギー消費量や、身体活動量を減少させる。ところが、その結果として、逆に体脂肪が増加して肥満を誘発し、インスリン抵抗性や腫瘍壊死因子の増大を引き起こす。このことが更にサルコペニアを助長し、言わばサルコペニアと肥満の負の連鎖をもたらす。

こうして、サルコペニアと肥満が合併した「サルコペニア肥満」は、単なる「肥満」以上に、生活習慣病のリスクをさらに増大させる。このため、サルコペニア肥満と筋萎縮という負の連鎖を断ち切ることで、健康寿命を長くできる可能性がある。そのような方法として、脂肪分解の増進、脂肪燃焼の促進、筋量の維持・増加などが考えられる。

先行技術として、多糖類の一種であるフコキサンチン又はフコキサンチノールを摂取することにより、サルコペニア肥満を予防できるという報告がある（特許文献１）。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特開２０２０－１３２５７６号公報

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0004] しかしながら、サルコペニア肥満を抑制できる組成物については、未だに満足なものが得られておらず、研究の余地が残されていた。

本発明は、上記課題に鑑みてなされたものであり、その目的は、新規なサルコペニア肥満抑制組成物、及びこれを含有し糖尿病によって誘導されたサルコペニア肥満を改善するための予防及び／又は治療用組成物を提供することである。

課題を解決するための手段

[0005] 本発明者は、特定のグアーガム分解物とグアー豆タンパク質とを含有した組成物にサルコペニア肥満抑制活性があることを見出し、基本的には本発明を完成するに至った。

こうして、本願発明に係るサルコペニア肥満抑制組成物は、（Ａ）平均分子量が１．８×１０^{3}～２．０×１０^{5}、平均分子量の範囲内のものが７０質量％以上含まれるグアーガム分解物と（Ｂ）グアー豆タンパク質とを含有し、Ｂ型粘度計を用いて２５℃、６０ｒｐｍで測定したときの１質量％水溶液の粘度が５０ｍＰａ・ｓ以下（より好ましくは２０ｍＰａ・ｓ以下）のものであって、前記グアーガム分解物が、グアー由来の胚乳に含まれ、ガラクトースとマンノースの含量比率（ガラクトース：マンノース）が１：１．５～１：２．１の範囲であるガラクトマンナン多糖を微生物由来β－マンナナーゼを用いて加水分解し、低分子化することにより得られたものであり、酵素－ＨＰＬＣ法により規定される食物繊維含量を少なくとも７０質量％、グアーガム分解物のオリゴ糖の含有量が１５質量％以下であり、含有するタンパク質中のアミノ酸のうち（グルタミン酸＋グルタミン＋アスパラギン酸＋アスパラギン）≧100 mg／100 g、（システイン＋チロシン＋セリン＋スレオニン）≧40 mg／100 g、全アミノ酸≧150 mg／100gであり、前記（Ａ）／（Ｂ）の比率が１０００以下であることを特徴とする。

[0006] また、別の発明に係るサルコペニア肥満の予防及び／又は治療用組成物は、上記サルコペニア肥満抑制組成物を含有し、糖尿病によって誘導されたサルコペニア肥満を改善するためのものであることを特徴とする。

また、別の発明に係る飲食品及び飼料は、上記サルコペニア肥満抑制組成物を含有することを特徴とする。この飲食品を摂取することにより、特に糖尿病によって誘導されたサルコペニア肥満を改善できるので、糖尿病患者に対する良好なものとなる。

本発明においては、本発明の組成物を含む、飲食品及び医薬品を提供することができる。飲食品は、食品と飲料を含むものであり、例えば、栄養補助食品、健康食品、特定保健用食品、機能性表示食品、食事療法用食品、総合健康食品、サプリメント、茶飲料、コーヒー飲料、ジュース、清涼飲料、ドリンク剤、米飯、パン、麺類、乳製品、卵加工品、水産・畜産加工食品、菓子、油脂及び油脂加工食品、調味料、惣菜などが挙げられる。医薬品は、医薬品又は医薬部外品を含むものであり、経口製剤、又は経腸製剤であることが好ましく、液剤、錠剤、顆粒剤、丸剤、シロップ剤などの形態とすることができる。

本発明における飼料とは、ヒト以外の生物に摂食させるための食べ物のことをいい、その形態については特に限定されない。飼料を適用しうる生物としては特に限定されないが、例えば、養殖動物やペット動物などが挙げられる。養殖動物としては、例えば、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ラクダ、ラマなどの家畜や、マウス、ラット、モルモット、ウサギなどの実験動物や、ニワトリ、アヒル、七面鳥、ダチョウなどの家禽などがある。ペット動物としては、例えば、イヌ、ネコなどがある。

発明の効果

[0007] 本発明によれば、新規なサルコペニア肥満抑制組成物、及びこれを含有し特に糖尿病によって誘導されたサルコペニア肥満を改善するためのサルコペニア肥満の予防及び／又は治療用組成物を提供できる。

図面の簡単な説明

[0008] [図1]Ｄｂ／Ｄｂマウスの経時的体重変化を示すグラフである。グラフ中、●はＮＤ群、■はＦＦＤ群、▲はＰＨＧＧ群を示す（図２，４において同じ）。

[図2]（Ａ）ｉＰＧＴＴ試験（腹腔内ブドウ糖負荷試験）及び（Ｂ）ＩＴＴ試験（インスリン負荷試験）後の血糖値変化を示すグラフである。

[図3]（Ａ）ｉＰＧＴＴ試験及び（Ｂ）ＩＴＴ試験後の血糖値グラフのＡＵＣ（曲線下面積）を示すグラフである。全体の図面中、「＊」はｐ＜０．０５、「＊＊」はｐ＜０．０１、「＊＊＊」はｐ＜０．００１を示す（他のグラフにおいても同じ）。

[図4]（Ａ）酸素分圧（VO_2）及び（Ｂ）二酸化炭素分圧（VCO_2）の経時的な変化を示すグラフである。

[図5]明期（Ｌｉｇｈｔ）と暗期（Ｄａｒｋ）において、（Ａ）酸素分圧（VO_2）及び（Ｂ）二酸化炭素分圧（VCO_2）の各群の平均値を示すグラフである。

[図6]（Ａ）握力測定結果及び（Ｂ）体重に対して正規化した握力を示すグラフである。

[図7]（Ａ）ヒラメ筋（ｓｏｌｅｕｓ）の重量及び（Ｂ）体重に対して正規化したヒラメ筋重量を示すグラフである。

[図8]（Ａ）足底筋（ｐｌａｎｔａｒｉｓ）の重量及び（Ｂ）体重に対して正規化した足底筋重量を示すグラフである。

[図9]各群において、（Ａ）ヒラメ筋の筋組織像及び（Ｂ）足底筋の筋組織像の顕微鏡写真図である。

[図10]（Ａ）ヒラメ筋の顕微鏡写真図及び（Ｂ）足底筋の顕微鏡写真図から断面積を求めた結果を示すグラフである。

[図11]（Ａ）肝重量及び（Ｂ）体重に対して正規化した肝重量を示すグラフである。

[図12]（Ａ）内臓脂肪量（ｅｐｉｄｉｄｙｍａｌ　ｆａｔ）及び（Ｂ）体重に対して正規化した内臓脂肪量を示すグラフである。

[図13]各群から取り出した肝組織について、（Ａ）ヘマトキシリン－エオジン染色（ＨＥ）、（Ｂ）マッソン三重染色（ＭＴ）及び（Ｃ）オイルレッドＯ染色（Ｏｉｌ－ｒｅｄ　Ｏ）したときの顕微鏡写真図である。

[図14]（Ａ）ＮＡＳ（非アルコール性脂肪性肝疾患の活動性スコア）及び（Ｂ）オイルレッドＯ面積を調べた結果を示すグラフである。

[図15]血液サンプルにおいて、（Ａ）ＡＬＴ（アラニンアミノトランスフェラーゼ）、（Ｂ）Ｔ－Ｃｈｏｌ（総コレステロール）、（Ｃ）ＴＧ（トリグリセリド）及び（Ｄ）ＮＥＦＡ（非エステル化脂肪酸）を調べた結果を示すグラフである。

[図16]糞便中の（Ａ）酢酸（Ａｃｅｔｉｃ　ａｃｉｄ）、（Ｂ）プロピオン酸（Ｐｒｏｐａｎｏｉｃ　ａｃｉｄ）及び（Ｃ）酪酸（Ｂｕｔａｎｏｉｃ　ａｃｉｄ）の濃度を調べた結果を示すグラフである。

[図17]血清中の（Ａ）酢酸、（Ｂ）プロピオン酸及び（Ｃ）酪酸の濃度を調べた結果を示すグラフである。

[図18]筋肉中のアミノ酸のうち、（Ａ）バリン（Ｖａｌｉｎｅ）、（Ｂ）ロイシン（Ｌｅｕｃｉｎｅ）、（Ｃ）イソロイシン（Ｉｓｏｌｅｕｃｉｎｅ）、（Ｄ）スレオニン（Ｔｈｒｅｏｎｉｎｅ）、（Ｅ）メチオニン（Ｍｅｔｈｉｏｎｉｎｅ）、（Ｆ）フェニルアラニン（Ｐｈｅｎｙｌａｌａｎｉｎｅ）、（Ｇ）リジン（Ｌｙｓｉｎｅ）及び（Ｈ）グルタミン酸（Ｇｌｕｔａｍｉｃ　ａｃｉｄ）の濃度を調べた結果を示すグラフである。

[図19]（Ａ）糞便中、（Ｂ）血清中及び（Ｃ）筋肉中のパルミチン酸（ｐａｌｍｉｔｉｃ　ａｃｉｄ）の濃度を調べた結果を示すグラフである。

[図20]空腸において、（Ａ）ｔｎｆａ、（Ｂ）ｉｌ６、（Ｃ）ｉｌ１ｂ、（Ｄ）ｃｄ３６及び（Ｅ）ｉｌ２２の各遺伝子の発現解析結果を示すグラフである。

[図21]筋肉において、（Ａ）ｔｒｉｍ６３、（Ｂ）ｆｂｘｏ３２、（Ｃ）ｔｎｆａ、（Ｄ）ｉｌ６、（Ｅ）ｆｏｘｏ１及び（Ｆ）ｈｄａｃ４の各遺伝子の発現解析結果を示すグラフである。

[図22]小腸における炎症関連細胞として、（Ａ）ＩＬＣ１、（Ｂ）ＩＬＣ３、（Ｃ）ｅｘ－ＩＬＣ３、（Ｄ）Ｍ１／ＣＤ４５、（Ｅ）Ｍ２／ＣＤ４５及び（Ｆ）Ｍ１／Ｍ２比を調べた結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0009] 次に、本発明の実施形態について、図表を参照しつつ説明するが、本発明の技術的範囲は、これらの実施形態によって限定されるものではなく、発明の要旨を変更することなく様々な形態で実施できる。

グアーガムとは、グアー豆の胚乳（正確には、子葉）から得られる水溶性の天然多糖類のことを意味し、直鎖状に結合した２分子のマンノースに１分子のガラクトースの側鎖を持つ多糖類であり、平均分子量は、２．０×１０^{5}～３．０×１０^{5}程度である。グアーガムには、血糖値上昇抑制効果、コレステロール低下効果、便通改善効果などの生理作用が知られている。本発明において、グアーガム分解物とは、インド・パキスタン等で食用に供されている一年生豆科植物グアー（学名：Ｃｙａｎｏｐｓｉｓ　ｔｅｔｒａｇｏｌｏｂａ）由来の豆を原料とし、その胚乳に含まれるガラクトマンナン多糖を加水分解し、低分子化することにより得られる水溶性食物繊維を意味する。グアーガムを加水分解する方法としては、酵素分解法、酸分解法など、特に限定するものではないが、分解物の分子量を整えやすい点から酵素分解法が好ましい。

[0010] 酵素分解法に用いられる酵素としては、マンノース直鎖を加水分解する酵素であれば特に限定されるものではないが、アスペルギルス属菌やリゾップス属菌などに由来するβ－マンナナーゼを用いることが好ましい。グアーガム分解物の平均分子量分布は、上限値が２×１０^{5}以下であり、好ましくは、１．０×１０^{5}以下、さらに好ましくは、２．５×１０^{4}以下である。グアーガム分解物の平均分子量分布の下限値は１．８×１０^{2}以上であり、好ましくは、３．０×１０^{3}以上である。平均分子量分布が１．８×１０^{2}よりも小さいとサルコペニア肥満抑制活性を十分に発揮することが難しくなり、平均分子量が２×１０^{5}を超えると、粘度が高すぎて飲食品に含有させることが難しくな

る。分子量分布の測定方法は、特に限定するものではないが、例えば分子量マーカーとしてポリエチレングリコール（平均分子量：２×１０^{2}、２×１０^{3}、２×１０^{4}及び１×１０^{5}）を使用し、ゲル濾過クロマトグラフ法を用いる方法等がある。

本発明のグアーガム分解物は、上記平均分子量の範囲内のものが７０質量％以上、好ましくは８０質量％以上含まれるものが用いられる。

[0011] ガラクトースとは、アルドヘキソースに分類される単糖の一種であり、分子式は$C_6H_{12}O_6$、分子量は１８０である（いずれもグルコースと同じ）。立体配置は２位（フィッシャー投影式で上から２番目）、５位の－ＯＨが同じ方向、３位、４位が反対方向であり、Ｄ－ガラクトースの５位の立体配置はＤ－グリセルアルデヒドと同じである。

マンノースとは、アルドヘキソースに分類される単糖の一種であり、分子式は$C_6H_{12}O_6$、分子量は１８０である（いずれもグルコースと同じ）。立体配置は２位、３位の－ＯＨが同じ方向、４位、５位が反対方向であり、Ｄ－マンノースの５位の立体配置はＤ－グリセルアルデヒドと同じである。マンノースは人間ではあまり代謝されず、経口摂取した場合には殆ど解糖系には入っていかない。

オリゴ糖の含有量は、ゲル濾過クロマトグラフの分析チャートより、６～１５質量％（１５質量％以下）であった。

タンパク質中のアミノ酸組成は、例えばＨＰＬＣを用いた公知の方法によって測定できる。アスパラギンとグルタミンは、アミノ酸分析の前処理において、タンパク質を加水分解する際に、それぞれアスパラギン酸とグルタミン酸に変化し、測定の際には、アスパラギンとアスパラギン酸、グルタミン酸とグルタミンは区別できない。このため、これらは纏めて、アスパラギン酸、グルタミン酸として定量される。

[0012] 「サルコペニア」とは、加齢・運動不足・疾患などの影響で、筋肉が減少してしまう状態（疾患）を意味する。運動不足で筋肉を使わないでいると、筋肉は衰えて細くなって更に運動不足を招いてしまうだけでなく、寝たきり

の原因にもなる。サルコペニアになると、糖尿病（特に２型糖尿病）や高血圧などのリスクが上昇するのに加え、歩く速度が低下したり、転倒のリスクが増加したり、死亡率が上昇するなどの影響が出てくる。

「サルコペニア肥満」とは、サルコペニアの状態において、摂取カロリーに対して、使用するカロリーが少ないときに、脂肪が増加することにより肥満が起こった状態を意味する。以前に比べて、身長や体重が同じであると、見た目だけでは肥満に気付きにくいものの、従来よりも著しく筋肉が減少していることがある。サルコペニア肥満は、６５才以上の高齢者に多く見られるが、２５～３０才頃から進行が始まり、生涯を通して進行する。これは、高齢者の活動能力を低下させる大きな原因の一つとなっている。

本発明は、各種疾患のうち、特に糖尿病（特に高齢２型糖尿病）によって誘導されたサルコペニア肥満について改善効果が認められる。

本発明のサルコペニア肥満抑制組成物は、そのまま或いは食品・飲料等に混ぜて経口摂取することができる。経口摂取する場合のサルコペニア肥満抑制組成物の投与量は、特に限定されないが、成人一人あたり１日あたりに０．５ｇ～７０ｇ（好ましくは３ｇ～３０ｇ、更に好ましくは６ｇ～１８ｇ）である。

[0013] ＜グアーガム分解物（ＰＨＧＧ）の調製＞

実施例１

水９００ｇに０．１Ｎ塩酸を加えてｐＨ４．５に調整した後、市販アスペルギルス属細菌由来のβ－マンナナーゼ０．２ｇとグアーガム粉末１００ｇを添加、混合した。この混合物を４０℃～４５℃で２４時間に渡って反応させた。反応後、９０℃で１５分間加熱して酵素を失活させた。反応液を吸引濾過により濾過分離し、不溶物を除去して得られた透明な溶液を減圧濃縮（Ｙａｍａｔｏ製エバポレーター）した。固形分量として、２０質量％のものを得た。これを噴霧乾燥装置（大川原化工機（株）製）により乾燥し、粉末として６５ｇのグアーガム分解物を得た。

グアーガム分解物を水に溶解させて、０．５（ｗ／ｖ）％濃度の水溶液を得

た。分子量マーカーとして、ポリエチレングリコール（平均分子量：２×１０^{2}、２×１０^{3}、２×１０^{4}及び１×１０^{5}）を使用し、ゲル濾過クロマトグラフィー（カラム：ＹＭＣ－Ｐａｃｋ　Ｄｉｏｌ－１２０、検出器：示差屈折計）を用いて平均分子量を求めたところ、約２００００であった。分子量が１．８×１０^{3}～２．０×１０^{5}のものが８５質量％以上含まれていた。

[0014] また、１質量％水溶液の粘度をＢ型粘度計を用いて２５℃、６０ｒｐｍで測定したところ、８ｍＰａ・ｓであった。

ガラクトースとマンノースの含量比率（ガラクトース：マンノース）を測定したところ、１：１．７であった。

酵素－ＨＰＬＣ法によって食物繊維含量を測定したところ、９０質量％であった。

オリゴ糖の含有量は、７．３質量％であった。

また、グアーガム分解物に含まれるタンパク質中のアミノ酸分析を行ったところ、表１に示す通りであった。この結果から、（グルタミン酸＋グルタミン＋アスパラギン酸＋アスパラギン）、（シスチン＋チロシン＋セリン＋スレオニン）、全アミノ酸を求めたところ、それぞれ170 mg／100 g、63 mg／100 g、359 mg／100 gであった。

また、グアーガム分解物とグアー豆タンパク質の比率を求めたところグアーガム分解物／グアー豆タンパク質＝２７９であった。

[0015]

[表1]

アミノ酸名	実施例番号		
	1	2	3
	mg/100g 組成物	mg/100g 組成物	mg/100g 組成物
グルタミン酸（Glu）	100	81	85
アスパラギン酸（Asp）	70	53	50
チロシン（Tyr）	27	22	33
グリシン（Gly）	22	18	21
アラニン（Ala）	18	12	17
アルギニン（Arg）	17	6	10
ロイシン（Leu）	14	3	8
シスチン（Cys）	14	17	15
リジン（Lys）	13	0	4
セリン（Ser）	13	8	8
フェニルアラニン（Phe）	11	8	13
プロリン（Pro）	10	0	0
スレオニン（Thr）	9	4	6
バリン（Val）	9	4	7
イソロイシン（Ile）	5	3	3
ヒスチジン（His）	4	0	0
メチオニン（Met）	2	0	0
トリプトファン（Trp）	1	0	0
合計	359	239	280

Glu+Gln+Asp+Asn	170	134	135
Thr+Ser+Tyr+Cys	63	51	62

[0016] 実施例２

水９００ｇに０．１Ｎ塩酸を加えてｐＨ３に調整した後、アスペルギルス属細菌由来の市販β－マンナナーゼ０．１５ｇとグアーガム粉末１００ｇを添加、混合した。この混合物を４０℃～４５℃で２４時間に渡って反応させた。反応後、９０℃で１５分間加熱して酵素を失活させた。反応液を吸引濾過により濾過分離し、不溶物を除去して得られた透明な溶液を減圧濃縮（Ｙａｍ

ａｔｏ製エバポレーター）した。固形分量として、２０質量％のものを得た。これを噴霧乾燥装置（大川原化工機（株）製）により乾燥し、粉末として６８ｇのグアーガム分解物を得た。

グアーガム分解物の平均分子量を実施例１と同様にして求めたところ、約２．５×10^4であった。ＨＰＬＣチャートの結果より、分子量が１．８×10^3～２．０×10^4のものが８５質量％以上含まれていた。

また、１質量％水溶液の粘度をＢ型粘度計を用いて２５℃、６０ｒｐｍで測定したところ、１０ｍＰａ・ｓであった。

ガラクトースとマンノースの含量比率（ガラクトース：マンノース）を測定したところ、１：１．８であった。

酵素－ＨＰＬＣ法によって食物繊維含量を測定したところ、８９質量％であった。

オリゴ糖の含有量は、１０質量％であった。

また、グアーガム分解物に含まれるタンパク質中のアミノ酸分析を行ったところ、（グルタミン酸＋グルタミン＋アスパラギン酸＋アスパラギン）、（シスチン＋チロシン＋セリン＋スレオニン）、全アミノ酸を求めたところ、それぞれ134 mg／100 g、51 mg／100 g、239 mg／100 gであった。

また、グアーガム分解物とグアー豆タンパク質の比率を求めたところグアーガム分解物／グアー豆タンパク質＝４１８であった。

[0017] 実施例３

水９００ｇに０．１Ｎ塩酸を加えてｐＨ４に調整した後、アスペルギルス属細菌由来の市販β－マンナナーゼ０．２５ｇとグアーガム粉末１００ｇを添加、混合した。この混合物を５０℃～５５℃で１２時間に渡って反応させた。反応後、９０℃で１５分間加熱して酵素を失活させた。反応液を吸引濾過によって濾過分離し、不溶物を除去して得られた透明な溶液を減圧濃縮（Ｙａｍａｔｏ製エバポレーター）した。固形分量として、２０質量％のものを得た。これを噴霧乾燥装置（大川原化工機（株）製）により乾燥し、粉末として７０ｇのグアーガム分解物を得た。

グアーガム分解物の平均分子量を実施例１と同様にして求めたところ、約１．５×１０^{4}であった。ＨＰＬＣチャートの結果より、分子量が１．８×１０^{3}～２．０×１０^{5}のものが８６質量％以上含まれていた。

[0018] また、１質量％水溶液の粘度をＢ型粘度計を用いて２５℃、６０ｒｐｍで測定したところ、９ｍＰａ・ｓであった。

ガラクトースとマンノースの含量比率（ガラクトース：マンノース）を測定したところ、１：２．０であった。

酵素－ＨＰＬＣ法によって食物繊維含量を測定したところ、８８質量％であった。

オリゴ糖の含有量は、９質量％であった。

また、グアーガム分解物に含まれるタンパク質中のアミノ酸分析を行ったところ、（グルタミン酸＋グルタミン＋アスパラギン酸＋アスパラギン）、（シスチン＋チロシン＋セリン＋スレオニン）、全アミノ酸を求めたところ、それぞれ135 mg／100 g、62 mg／100 g、280 mg／100 gであった。

また、グアーガム分解物とグアー豆タンパク質の比率を求めたところグアーガム分解物／グアー豆タンパク質＝３５７であった。

実施例４

特開平５－１１７１５６号公報の実施例（第４頁第３行～第４頁第１０行）の記載に従ってグアーガム分解物の調製を行った。実施例１に準じて平均分子量を求めたところ５．５×１０^{3}であった。

[0019] ＜生理活性試験＞

（Ａ）試験方法

１．試験動物

７週齢の雄性糖尿病Ｄｂ／Ｄｂマウス（清水研究所サプライズ社製）を用いた。１週間の予備飼育終了後、８週齢のマウスに次の３群に群分けを行った（各群についてｎ=６）。

通常食群（ＮＤ群；３４４．９ｋｃａｌ／１００ｇ（脂肪ｋｃａｌ）４．６％（クレア社製））、無繊維食群（ＦＦＤ群）又はＰＨＧＧ添加食群（ＰＨ

ＧＧ群）のいずれかを８週間与えた。各群については、摂取カロリーが一定になるようにペアフィーディングを実施した。各群のマウスを１６週齢時に解剖し、血液の採取と臓器の摘出を行った。

２．ブドウ糖及びインスリン負荷試験

１週間毎にマウスを一晩１４時間絶食させ、体重を測定した。１５週齢時に腹腔内ブドウ糖負荷試験（ｉＰＧＴＴ：２ｇ／ｋｇ体重）及びインスリン負荷試験（ＩＴＴ：０．７５Ｕ／ｋｇ体重）を、それぞれ１４時間及び５時間絶食後に実施し、グルコメーター（Ｇｕｌｔｅｓｔ　Ｎｅｏ　Ａｌｐｈａ（三和香港健幸社製））を用いて血糖を測定した。ｉＰＧＴＴとＩＴＴの結果の曲線下面積（ＡＵＣ）をそれぞれ解析した。

[0020] ３．間接熱量測定

生体内間接開放回路熱量測定を、制御された周囲温（２４±２℃）の代謝チャンバーで行った。常温空気流量（０．６リットル／分）を室内で吸引し、メタボリック分析装置（O_2／CO_2分析装置ＭＭ２０２Ｒ（室町機械株式会社製））によってモニタリングした。１２時間周期の明／暗サイクル中の２４時間VO_2とVCO_2を測定した。ガス濃度は密閉されたチャンバーの入口と出口でモニターした。

４．握力測定

１６週齢時にマウス用握力計（モデルＤＳ２－５０Ｎ（ＩＭＡＤＡ社製））を用いて、握力を測定した。１日に６回の連続測定を１分間隔で実施した。測定者は、各マウスがいずれの群に属しているかを分からないようにした。また、握力は体重に対して正規化した。

[0021] ５．ヒラメ筋及び足底筋の重量測定

各個体のヒラメ筋（Ｓｏｌｅｕｓ）と足底筋（Ｐｌａｎａｒｉｓ）の重量を測定した。各筋肉重量は体重に対して正規化した。

６．筋組織像

ヒラメ筋と足底筋を得て、１０％緩衝ホルムアルデヒドで固定し、パラフィンに包埋した。筋切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色で染色し

た。画像はＢＺ－Ｘ７１０蛍光顕微鏡（キーエンス社製）で撮影した。断面積はＩｍａｇｅ　Ｊ（ＮＩＨ）で測定した。

７．肝重量及び内臓脂肪量

肝重量（Ｌｉｖｅｒ　Ｗｅｉｇｈｔ）及び内臓脂肪量（Ｅｐｉｄｉｄｙｍａｌ　Ｆａｔ　Ｗｅｉｇｈｔ）を測定した。いずれも体重に対して正規化した。

８．肝組織像

肝臓を採取し、１０％緩衝ホルムアルデヒドで固定し、パラフィンに包埋した。肝切片を調製し、ヘマトキシリン－エオジン（ＨＥ）、マッソン三重染色（ＭＴ）及びオイルレッドＯ（Ｏｉｌ－ｒｅｄ　Ｏ）で染色した。画像はＢＺ－Ｘ７１０蛍光顕微鏡（キーエンス社製）で撮影した。さらに、非アルコール性脂肪性肝疾患（ＮＡＦＬＤ）活動性スコア（ＮＡＳ）を用いてＮＡＦＬＤの重症度を評価した。

[0022] ９．生化学検査

絶食させたマウスから血液サンプルを採取し、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）レベル、総コレステロール（Ｔ－Ｃｈｏｌ）、トリグリセリド（ＴＧ）及び非エステル化脂肪酸（ＮＥＦＡ）を測定した。生化学的検査は、富士フィルム和光純薬株式会社に依頼した。

１０．糞便及び血清の短鎖脂肪酸（ＳＣＦＡ）濃度及び筋肉中アミノ酸濃度

ネズミの直腸糞と血清サンプルのＳＣＦＡ組成、及びネズミの足底筋のアミノ酸組成をＡｇｉｌｅｎｔ　７８９０Ｂ／７０００Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍ（アジレント・テクノロジー社製）のガスクロマトグラフ質量分析計（ＧＣ／ＭＳ）を用いて分析した。直腸糞（２０ｍｇ）、血清（５０μＬ）、足底筋（２０ｍｇ）のサンプルを５００μＬのアセトニトリルと５００μＬの希釈水に加え、ボールミルで４０００ｒｐｍ、２分間粉砕した後、３７℃で１０００ｒｐｍで３０分間振とうし、１４０００ｒｐｍで３分間、室温で遠心分離した。上澄み液（５００μＬ）を５００μＬのアセトニトリルに加え、１０

００ｒｐｍで３７℃にて３分間振とうした。その後、室温で３分間、１４０００ｒｐｍで遠心分離し、０．１ｍｏｌ／Ｌ　ＮａＯＨでｐＨを８に調整して、ＳＣＦＡを抽出した。

次いで、ＳＰＥ－ＧＣシステムＳＧＩ－Ｍ１００（アイスティサイエンス社製）を用いてオンライン固相抽出（ＳＰＥ）法によりＳＣＦＡとアミノ酸濃度を自動的に測定した。

[0023]　１１．血清、肝臓、糞、ヒラメ筋の遊離脂肪酸

マウスの血清、肝臓、糞、ヒラメ筋におけるパルミチン酸の組成を、ガスクロマトグラフ質量分析計（ＧＣ／ＭＳ）、Ａｇｉｌｅｎｔ　７８９０Ｂ／７０００Ｄ（アジレント・テクノロジー社製）を用いて分析した。２５ｍＬの血清と１５μｇの肝臓、糞、足底筋を、脂肪酸メチル化キット（ナカライテスク社製）を用いてメチル化した。最終生成物をＶａｒｉａｎ社のキャピラリーカラム（ＤＢ－ＦＡＴＷＡＸ　ＵＩ（アジレント・テクノロジー社製））にロードした。脂肪酸の分離にはＣＰ－Ｓｉｌ８８　ｆｏｒ　ＦＡＭＥ（１００ｍ×内径０．２５ｍｍ×膜厚０．２０μｍ（アジレント・テクノロジー社製））のキャピラリーカラムを用いた。カラムの温度は、１００℃で４分間維持した後、３℃／分で２４０℃まで上昇させ、７分間保持した。サンプルはスプリットモードで、スプリット比５：１で注入した。各脂肪酸メチルエステルは選択されたイオンモニタリングモードで検出した。すべての結果は，Ｃ１７：０内部標準物質のピーク高さで規格化した。

[0024]　１２．空腸及びヒラメ筋における遺伝子発現解析

解剖で得た空腸及びヒラメ筋試料を氷冷したＱＩＡｚｏｌ　Ｌｙｓｉｓ試薬（キアゲン社製）中でホモジナイズし、全ＲＮＡを単離した。全ＲＮＡ（０．５μｇ）を高容量ｃＤＮＡ逆転写キット（アプライドバイオシステムズ社製）を用いて逆転写した。逆転写反応は３７℃で１２０分間行い、逆転写の不活性化は８５℃で５分間行った。リアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（ＲＴ－ＰＣＴ）を用いて、ヒラメ筋についてはＴｒｉｍ６３、Ｆｂｘｏ３２、Ｔｎｆａ、Ｉｌ６、Ｆｏｘｏ１及びＨｄａｃ４のｍＲＮＡ発現レベル

を、空腸についてはＴｎｆａ、ＩＬ６、ＩＬ１Ｂ、Ｃｄ３６及びＩＬ２２のｍＲＮＡ発現レベルを定量した。ＴａｑＭａｎ　Ｆａｓｔ　Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（アプライドバイオシステムズ社製）を用いてＲＴ－ＰＣＴを実施した。

ＰＣＴ条件として次の方法を用いた。５０℃で２分間の合成反応と９５℃で２０秒間の変性を１サイクルとし、これを４０サイクル実施した後、９５℃で１秒間と６０℃で２０秒間を実施した。それぞれの標的遺伝子の相対的発現量をＧａｐｄｈ閾値周期（ＣＴ）値に正規化し、比較Ｃｔ法（ｃｏｍｐａｒａｔｉｖｅ　ｔｈｒｅｓｈｏｌｄ　ｃｙｃｌｅ　２－ΔΔＣＴ　ｍｅｔｈｏｄ）を用いて定量した。ＮＤマウスのシグナルを１．０として相対値を算出した。

[0025] １３．マウスの小腸からの単核細胞の単離及びフローサイトメトリー

ヘパリン化生理食塩水による全身潅流を行った後、腸管粘膜固有層単核細胞を、ラミナ固有解離キット（１３０－０９７－４１０（ミルテニー・バイオテック社製））を用いて単離した。細胞ペレットを４０％パーコールに再懸濁し、８０％パーコールが５ｍＬ含まれる遠心管の上部に加えた。２％ＦＢＳ／ＰＢＳで２回洗浄し、４２０×ｇで２０分間ポスト密度勾配遠心し、粘膜固有層単核細胞を得た。

ＦＡＣＳ　Ｃａｎｔｏ ＩＩで染色細胞を分析し、ＦｌｏｗＪｏバージョン１０ソフトウェア（ＴｒｅｅＳｔａｒ社製）を用いてデータを分析した。自然リンパ系細胞のゲート設定には、Ｂｉｏｔｉｎ－ＣＤ３ｅ（１００３０４；ｃｌｏｎｅ：１４５－２Ｃ１１）、Ｂｉｏｔｉｎ－ＣＤ４５Ｒ／Ｂ２２０（１０３２０４；ｃｌｏｎｅ：ＲＡ３－６Ｂ２；１／２００）、Ｂｉｏｔｉｎ－Ｇｒ－１（１０８４０４；ｃｌｏｎｅ：ＲＢ６－８Ｃ５；１／２００）、Ｂｉｏｔｉｎ－ＣＤ１１ｃ（１１７３０４；ｃｌｏｎｅ：Ｎ４１８；１／２００）、Ｂｉｏｔｉｎ－ＣＤ１１ｂ（１０１２０４；ｃｌｏｎｅ：Ｍ１／７０；１／２００）、Ｂｉｏｔｉｎ－Ｔｅｒ１１９（１１６２０４；ｃｌｏｎｅ：ＴＥＲ－１１９；１／２００）、Ｂｉｏｔｉｎ－ＦｃｅＲＩａ（１３

４３０４；ｃｌｏｎｅ：ＭＡＲ－１；１／２００）、ＦＩＴＣ－Ｓｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎ（４０５２０２；１／５００）、ＰＥ－Ｃｙ７－ＣＤ１２７（１３５０１４；ｃｌｏｎｅ：Ａ７Ｒ３４；１／１００）、Ｐａｃｉｆｉｃ Ｂｌｕｅ－ＣＤ４５（１０３１１６；ｃｌｏｎｅ：３０－Ｆ１１；１／１００）、ＰＥ－ＧＡＴＡ－３（ｃｌｏｎｅ ＴＷＡＪ、１／５０）、ＡＴＣ－ＲＯＲγ（ｃｌｏｎｅ ＡＦＫＪＳ－９、１／５０）、Ｆｉｘａｂｌｅ Ｖｉａｂｉｌｉｔｙ Ｄｙｅ ｅＦｌｕｏｒ７８０（１／４００）の各抗体を用いた。

更に、Ｍ１及びＭ２マクロファージのゲートには、ＡＰＣＴ－ＣＤ４５．２（１７０４５４８２；ｃｌｏｎｅ：１０４、１／５０）、ＰＥ－Ｆ４／８０（１２４８０１８２；ｃｌｏｎｅ：ＢＭ８、１／５０）、ＡＰＣ－Ｃｙ７－ＣＤ１１ｂ（４７０１１２８２；ｃｌｏｎｅ：Ｍ１／７０、１／５０）、ＦＩＴＣ－ＣＤ２０６（ＭＡ５１６８７０；ｃｌｏｎｅ：ＭＲ５Ｄ３、１／５０）、ＰＥ－ＣＹ７－ＣＤ１１ｃ（２５０１１４８２；ｃｌｏｎｅ：Ｎ４１８、１／５０）の各抗体を用いた。

上記抗体は、全てｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ社製のものを用いた。

[0026] （Ｂ）試験結果

１．ブドウ糖及びインスリン負荷試験

図１には、ＮＤ群、ＦＦＤ群及びＰＨＧＧ群の体重変化を示した。１５週齢時に実施したｉＰＧＴＴ及びＩＴＴの各試験後の血糖値変化を図２に、ＡＵＣを図３に、それぞれ示した。ＮＤ群では、いずれの試験でも血糖値が増加し、Ｄｂ／Ｄｂマウスの特徴である糖尿病を発症している（或いは発症しつつある）と考えられた。これに対し、ＰＨＧＧ群では、いずれの試験でもＮＤ群に比べて有意に（ｐ＜０．０１）血糖値が低下し、耐糖能障害が改善した。

２．間接熱量測定

図４には、各群の時間毎の酸素分圧（VO_2）と二酸化炭素分圧（VCO_2）の変化を示した。図５には、明期（１２時間）と暗期（１２時間）のVO_2

とVCO_2の平均値を示した。ＰＨＧＧ群は、ＮＤ群及びＦＦＤ群に比べ、有意に（ｐ＜０．０５）基礎代謝が増加した。

３．握力測定

図６（Ａ）には握力測定結果を、図６（Ｂ）には体重に対して正規化した結果をそれぞれ示した。ＰＨＧＧ群は、ＮＤ群及びＦＦＤ群に比べ、有意に握力が強かった。

[0027] ４．ヒラメ筋及び足底筋の重量測定

図７（Ａ）には各群のヒラメ筋の重量を、図７（Ｂ）には体重に対して正規化した結果をそれぞれ示した。図８（Ａ）には各群の足底筋の重量を、図８（Ｂ）には体重に対して正規化した結果をそれぞれ示した。

ＰＨＧＧ群は、ＮＤ群及びＦＦＤ群に比べ、有意にヒラメ筋及び足底筋の重量が重かった。

５．筋組織像

図９には、各群におけるヒラメ筋及び足底筋の筋組織像（顕微鏡写真図のうち代表的なもの）を示した。図１０には、各筋肉の断面積を調べた結果を示した。

ＰＨＧＧ群は、ＮＤ群及びＦＦＤ群に比べ、有意に筋肉断面積が大きかった。

６．肝重量及び内臓脂肪量

図１１（Ａ）には肝重量を、図１１（Ｂ）には体重に対して正規化した肝重量を、それぞれ示した。図１２（Ａ）には内臓脂肪量を、図１２（Ｂ）には体重に対して正規化した内臓脂肪量を、それぞれ示した。

ＰＨＧＧ群は、ＮＤ群及びＦＦＤ群に比べ、有意に肝重量が大きかった。また、ＰＨＧＧ群は、ＮＤ群及びＦＦＤ群に比べ、正規化した内臓脂肪量が有意に減少した。

[0028] ７．肝組織像

図１３には、各群から取り出した肝組織をヘマトキシリン－エオジン（ＨＥ）、マッソン三重染色（ＭＴ）及びオイルレッドＯ（Ｏｉｌ－ｒｅｄ　Ｏ

）で染色したときの代表的な顕微鏡写真図を示した。図１４には、３群について、ＮＡＳ及びオイルレッドＯ面積を調べた結果を示した。

ＰＨＧＧ群は、ＮＤ群及びＦＦＤ群に比べ、有意に脂肪肝を改善した。

８．生化学検査

図１５には、血液サンプル中のＡＬＴ、Ｔ－Ｃｈｏｌ、ＴＧ及びＮＥＦＡを調べた結果を示した。いずれの検査項目についても、ＰＨＧＧ群は、ＮＤ群又はＦＦＤ群に比べ、有意に低値を示した。このように、ＰＨＧＧ群は、脂質代謝障害を有意に改善した。

９．糞便及び血清のＳＣＦＡ及びアミノ酸濃度

図１６には、糞便中の酢酸（Ａｃｅｔｉｃ　ａｃｉｄ）、プロピオン酸（Ｐｒｏｐａｎｏｉｃ　ａｃｉｄ）及び酪酸（Ｂｕｔａｎｏｉｃ　ａｃｉｄ）濃度を示した。図１７には、血清中の各短鎖脂肪酸濃度を示した。

いずれの短鎖脂肪酸についても糞便中及び血清中において、ＰＨＧＧ群は、ＮＤ群又はＦＦＤ群に比べ、有意に上昇した。

図１８には、筋肉中のアミノ酸のうち、バリン、ロイシン、イソロイシン、スレオニン、メチオニン、フェニルアラニン、リジン及びグルタミン酸の濃度を示した。これらのアミノ酸は、筋タンパク質合成及び分解抑制に関わるものである。

いずれのアミノ酸についても、ＰＨＧＧ群は、ＮＤ群及びＦＦＤ群に比べ、有意に上昇した。

[0029] １０．糞便、血清、筋肉中のパルミチン酸濃度

図１９には、糞便、血清及び筋肉中のパルミチン酸濃度を示した。

ＰＨＧＧ群は、ＮＤ群及びＦＦＤ群に比べ、糞便中では有意に上昇し、血清及び筋肉中では有意に減少した。

１１．空腸及びヒラメ筋における遺伝子発現解析

図２０には空腸における遺伝子発現解析結果を、図２１には筋肉における遺伝子発現解析結果を、それぞれ示した。

空腸においては、ＰＨＧＧ群は、ＮＤ群又はＦＦＤ群に比べ、炎症関連遺

伝子（ｔｎｆａ、ｉｌ６、ｉｌ１ｂ、ｃｄ３６）の発現が有意に低下した。筋肉においては、ＰＨＧＧ群は、ＮＤ群又はＦＦＤ群に比べ、筋萎縮関連遺伝子（ｔｒｉｍ６３、ｆｂｘｏ３２、ｔｎｆａ、ｉｌ６、ｆｏｘｏ１、ｈｄａｃ４）の発現が有意に低下した。

１２．小腸における炎症細胞

図２２には、ＩＬＣ１、ＩＬＣ３、ｅｘ－ＩＬＣ３、Ｍ１／ＣＤ４５、Ｍ２／ＣＤ４５及びＭ１／Ｍ２比を測定した結果を示した。

ＰＨＧＧ群は、ＮＤ群及びＦＦＤ群に比べ、炎症性細胞やこれに関連する因子（ＩＬＣ１、ｅｘ－ＩＬＣ３、Ｍ１／ＣＤ４５）が有意に減少した。また、ＰＨＧＧ群は、炎症を解消する因子（ＩＬ２２、ＩＬ３、Ｍ２マクロファージ）を有意に増加した。

[0030] 上記の通り、ＮＤ群及びＦＦＤ群では、過食及び運動不足により有意なサルコペニア肥満が観測された。これに対し、ＰＨＧＧは、サルコペニア、糖尿病及び肥満のいずれに対しても有効であった。すなわち、耐糖能障害の改善、基礎代謝の増加、握力低下・筋肉量減少の改善、内臓脂肪量の減少、肝脂肪の改善、脂質代謝障害の改善が認められた。その機序として、糞便中及び血液中の短鎖脂肪酸の増加、筋肉中の分岐鎖アミノ酸の上昇、血液中の飽和脂肪酸の減少、飽和脂肪酸の排泄の増加、骨格筋の筋萎縮関連遺伝子の発現低下及び小腸の炎症関連遺伝子の発現低下、小腸粘膜固有層における炎症細胞の減少が明らかとなった。

このように本実施形態によれば、新規なサルコペニア肥満抑制組成物、及びこれを含有し糖尿病によって誘導されたサルコペニア肥満を改善するためのサルコペニア肥満の予防及び／又は治療用組成物を提供できた。

請求の範囲

[請求項1] （Ａ）平均分子量が１．８×１０^{3}～２．０×１０^{5}、平均分子量の範囲内のものが７０質量％以上含まれるグアーガム分解物と（Ｂ）グアー豆タンパク質とを含有し、Ｂ型粘度計を用いて２５℃、６０ｒｐｍで測定したときの１質量％水溶液の粘度が５０ｍＰａ・ｓ以下のサルコペニア肥満抑制組成物であって、

前記グアーガム分解物が、グアー由来の胚乳に含まれ、ガラクトースとマンノースの含量比率（ガラクトース：マンノース）が１：１．５～１：２．１の範囲であるガラクトマンナン多糖を微生物由来β－マンナナーゼを用いて加水分解し、低分子化することにより得られたものであり、酵素－ＨＰＬＣ法により規定される食物繊維含量を少なくとも７０質量％、グアーガム分解物のオリゴ糖の含有量が１５質量％以下であり、含有するタンパク質中のアミノ酸組成のうち（グルタミン酸＋グルタミン＋アスパラギン酸＋アスパラギン）≧100 mg／100 g、（シスチン＋チロシン＋セリン＋スレオニン）≧40 mg／100 g、全アミノ酸≧150 mg／100gであり、前記（Ａ）／（Ｂ）の比率が１０００以下であるサルコペニア肥満抑制組成物。

[請求項2] 請求項１に記載のサルコペニア肥満抑制組成物を含有し、糖尿病によって誘導されたサルコペニア肥満を改善するためのサルコペニア肥満の予防及び／又は治療用組成物。

[請求項3] 請求項１に記載のサルコペニア肥満抑制組成物を含有する飲食品。

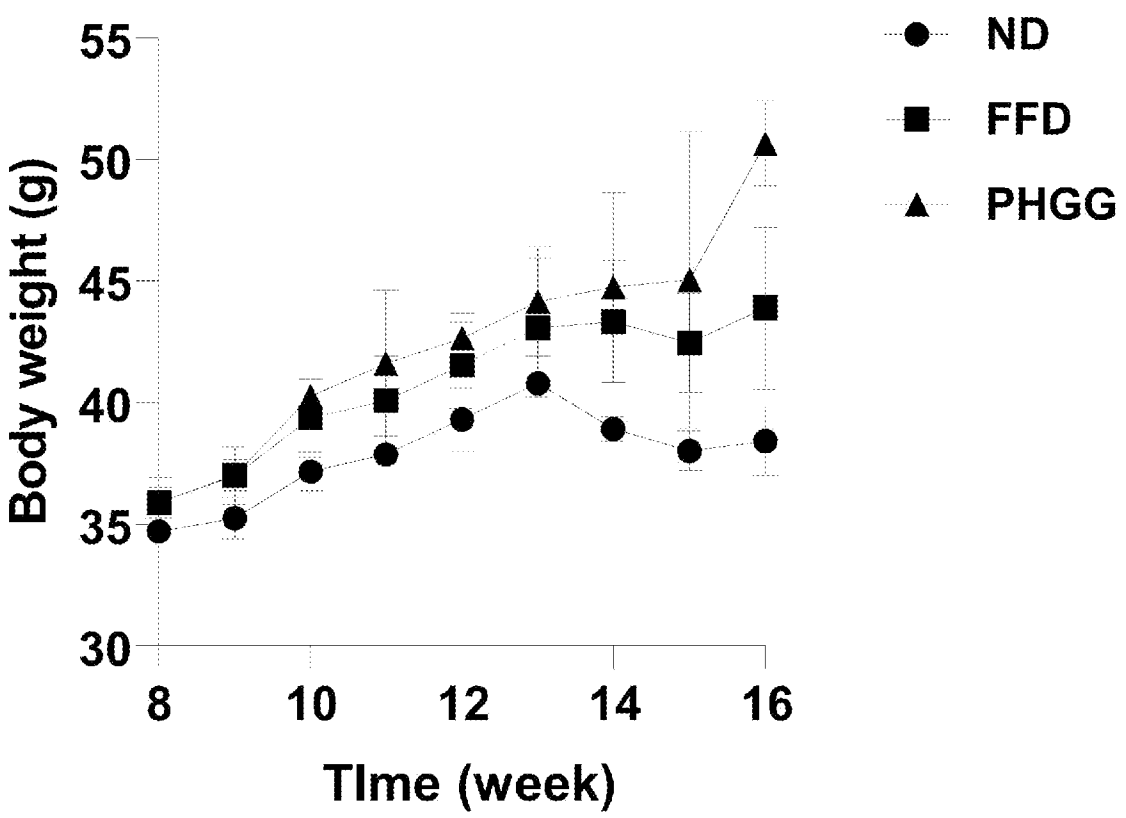
[請求項4] 請求項１に記載のサルコペニア肥満抑制組成物を含有する医薬品。

[請求項5] 請求項２に記載のサルコペニア肥満の予防及び／又は治療用組成物を含有する医薬品。

[請求項6] 請求項１に記載のサルコペニア肥満抑制組成物を含有する飼料。

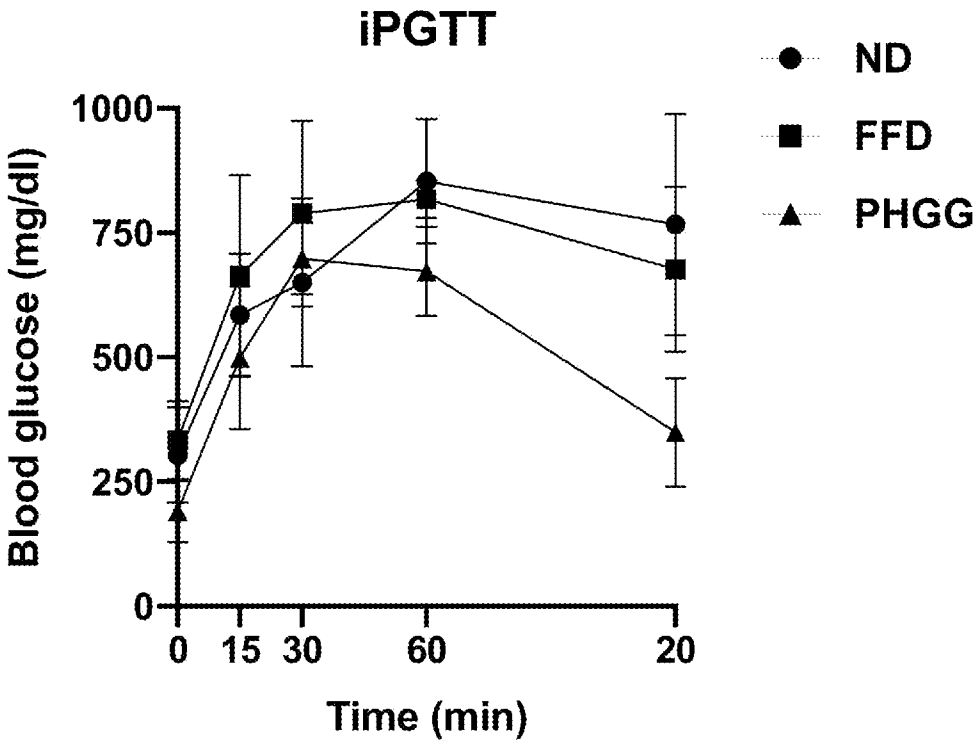
[請求項7] 請求項２に記載のサルコペニア肥満の予防及び／又は治療用組成物を含有する飼料。

[図1]

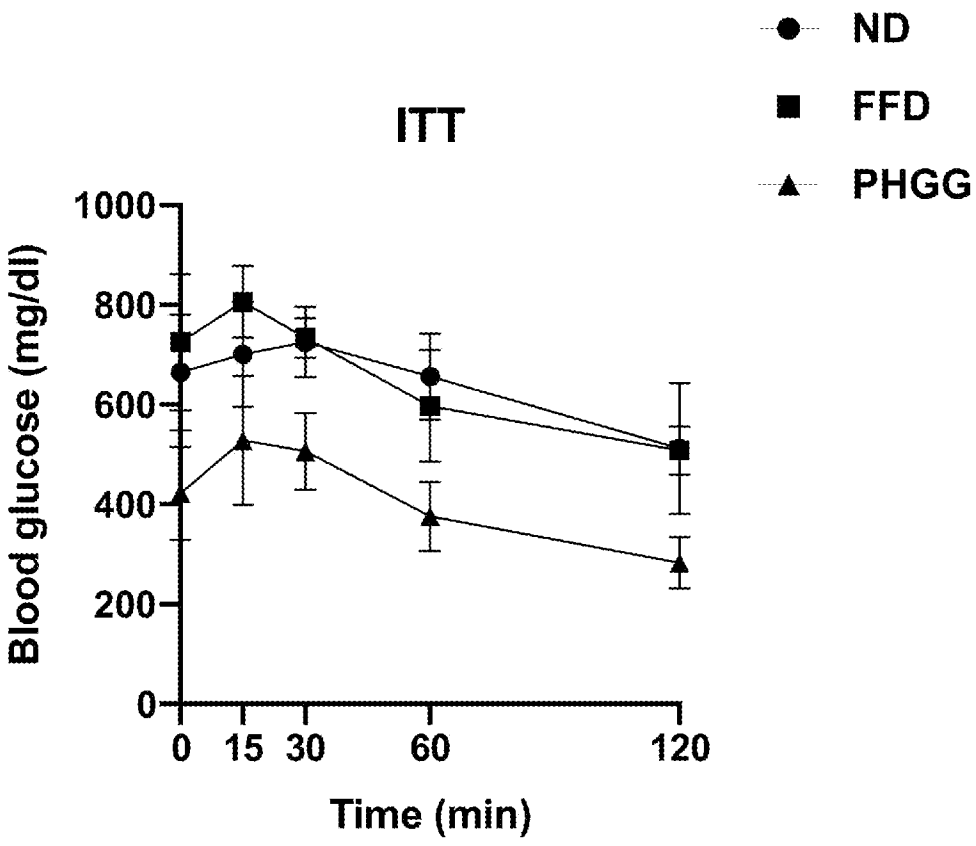


[図2]

(A)

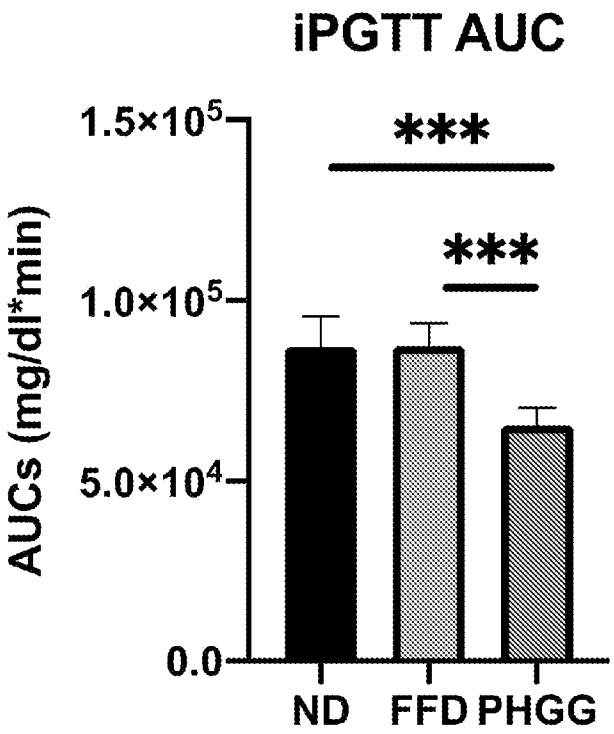

iPGTT
ND
FFD
PHGG
Blood glucose (mg/dl)
1000
750
500
250
0
0
15
30
60
20
Time (min)

(B)

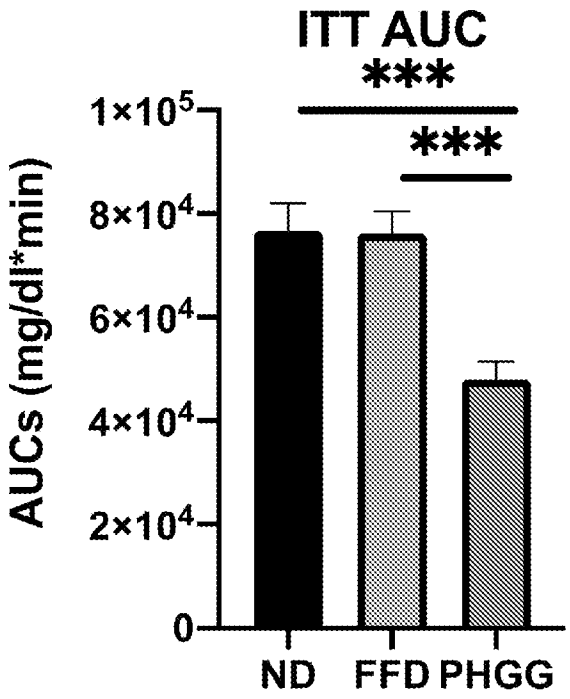

ITT
ND
FFD
PHGG
Blood glucose (mg/dl)
1000
800
600
400
200
0
0
15
30
60
120
Time (min)

[図3]

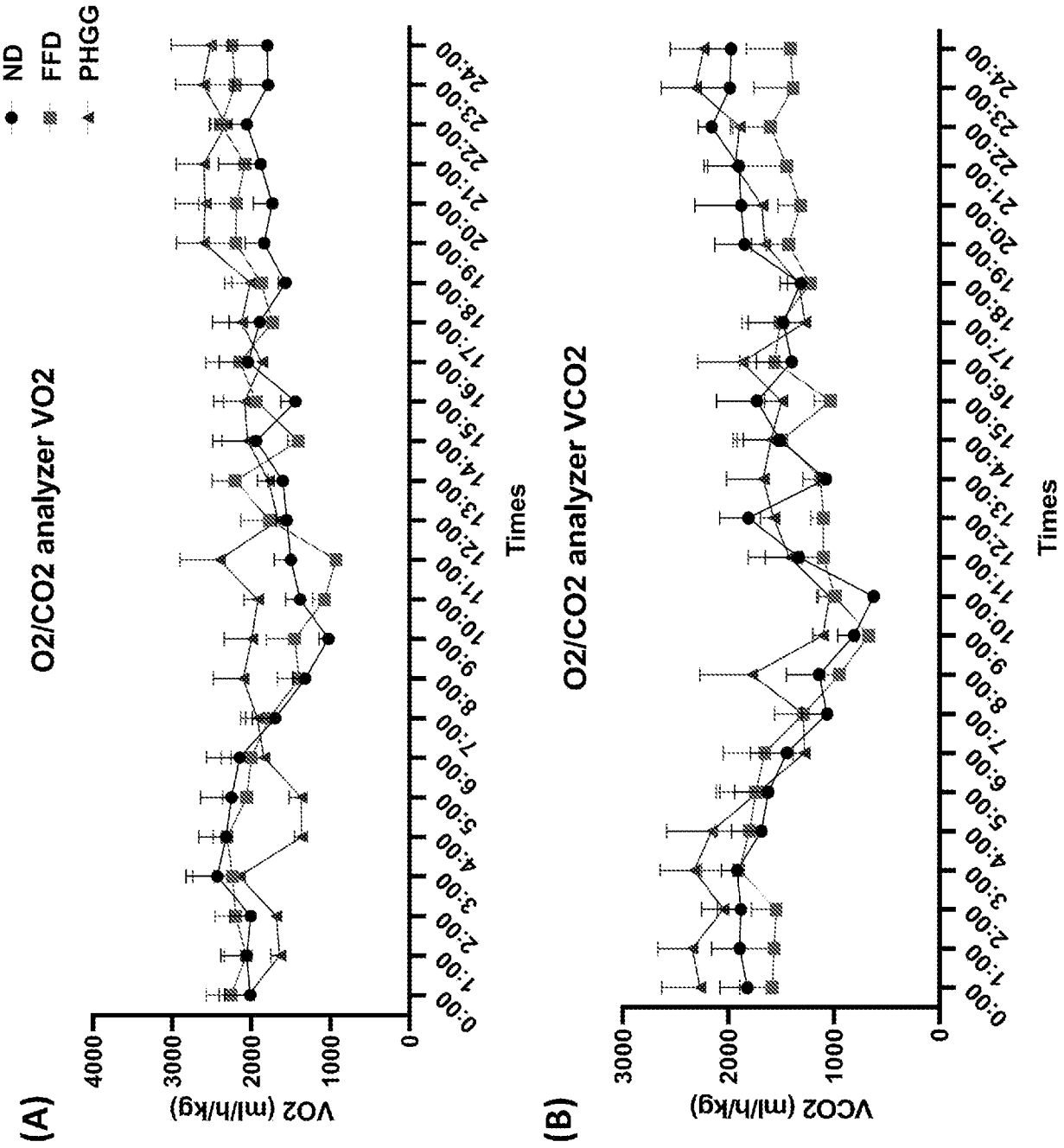
(A)


iPGTT AUC
AUCs (mg/dl*min)
1.5×10^5
1.0×10^5
5.0×10^4
0.0
***
***
ND
FFD
PHGG

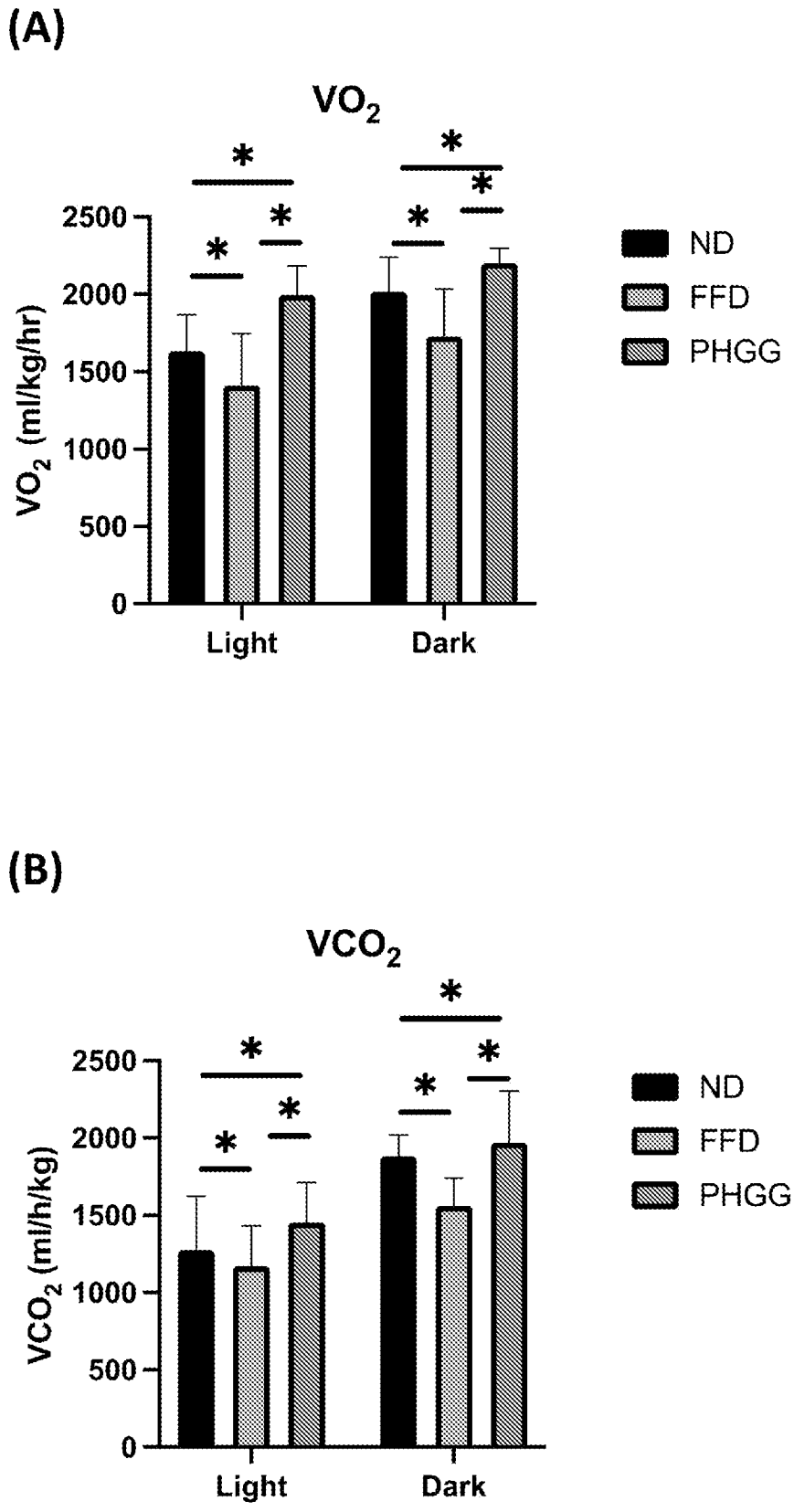
(B)


ITT AUC
AUCs (mg/dl*min)
1×10^5
8×10^4
6×10^4
4×10^4
2×10^4
0
***
***
ND
FFD
PHGG

[図4]

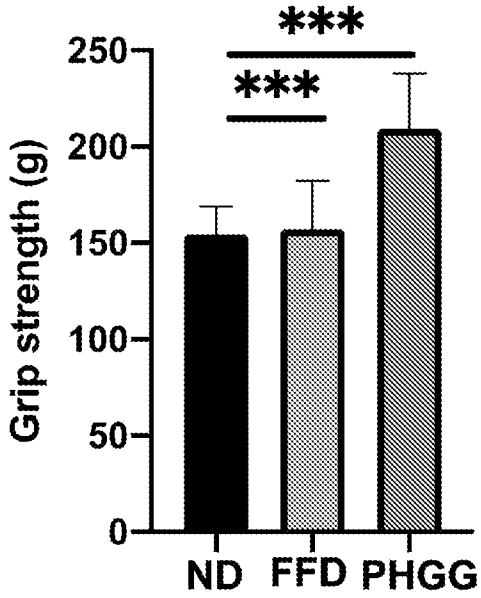

(A)
O2/CO2 analyzer VO2
VO2 (ml/h/kg)
4000
3000
2000
1000
0
Times
0:00
1:00
2:00
3:00
4:00
5:00
6:00
7:00
8:00
9:00
10:00
11:00
12:00
13:00
14:00
15:00
16:00
17:00
18:00
19:00
20:00
21:00
22:00
23:00
24:00
ND
FFD
PHGG
(B)
O2/CO2 analyzer VCO2
VCO2 (ml/h/kg)
3000
2000
1000
0
Times

[図5]

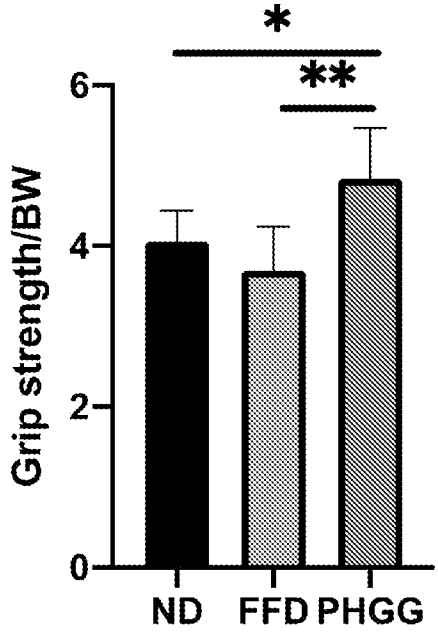

(A)
VO2
2500
2000
1500
1000
500
0
VO2 (ml/kg/hr)
Light
Dark
ND
FFD
PHGG
(B)
VCO2
2500
2000
1500
1000
500
0
VCO2 (ml/h/kg)
Light
Dark
ND
FFD
PHGG

[図6]

(A)

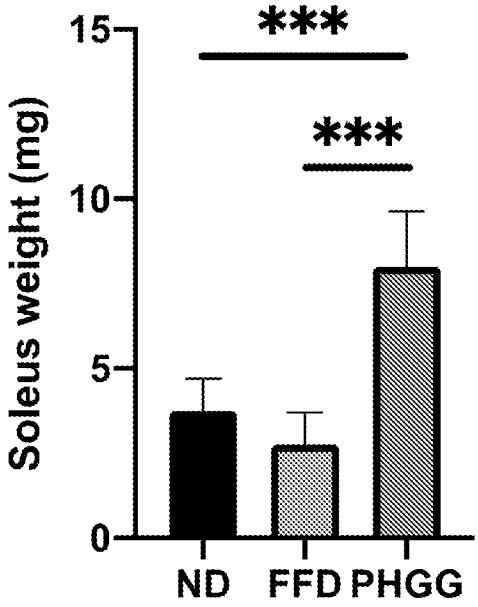

***
***
250
200
150
100
50
0
Grip strength (g)
ND
FFD
PHGG

(B)

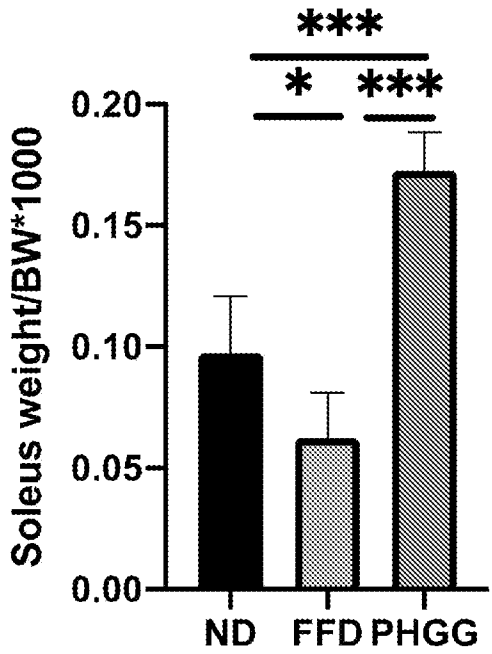

*
**
6
4
2
0
Grip strength/BW
ND
FFD
PHGG

[図7]

(A)

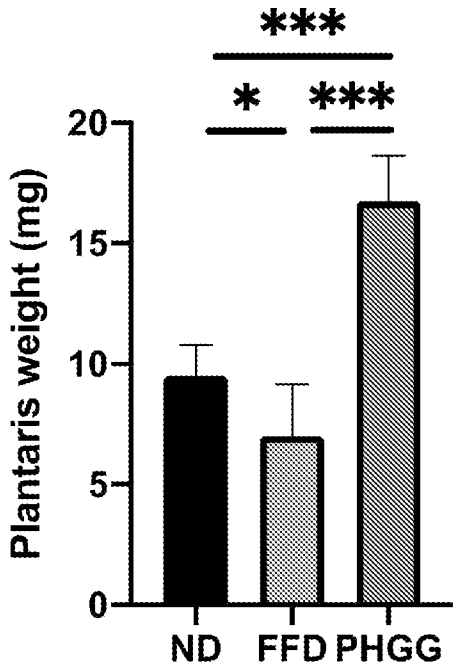

***
***
15
10
5
0
Soleus weight (mg)
ND
FFD
PHGG

(B)

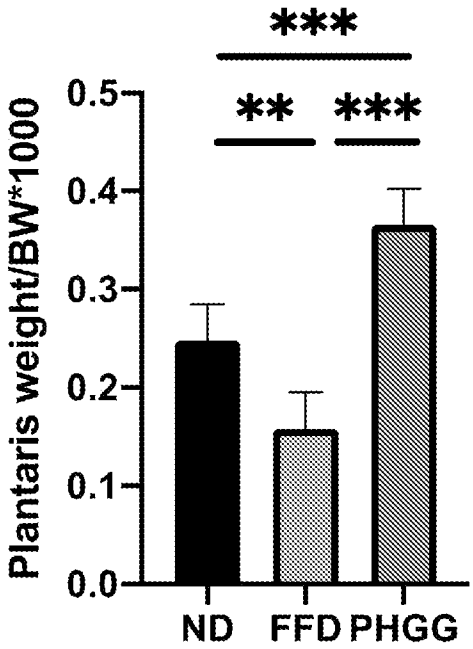

***
*
***
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
Soleus weight/BW*1000
ND
FFD
PHGG

[図8]

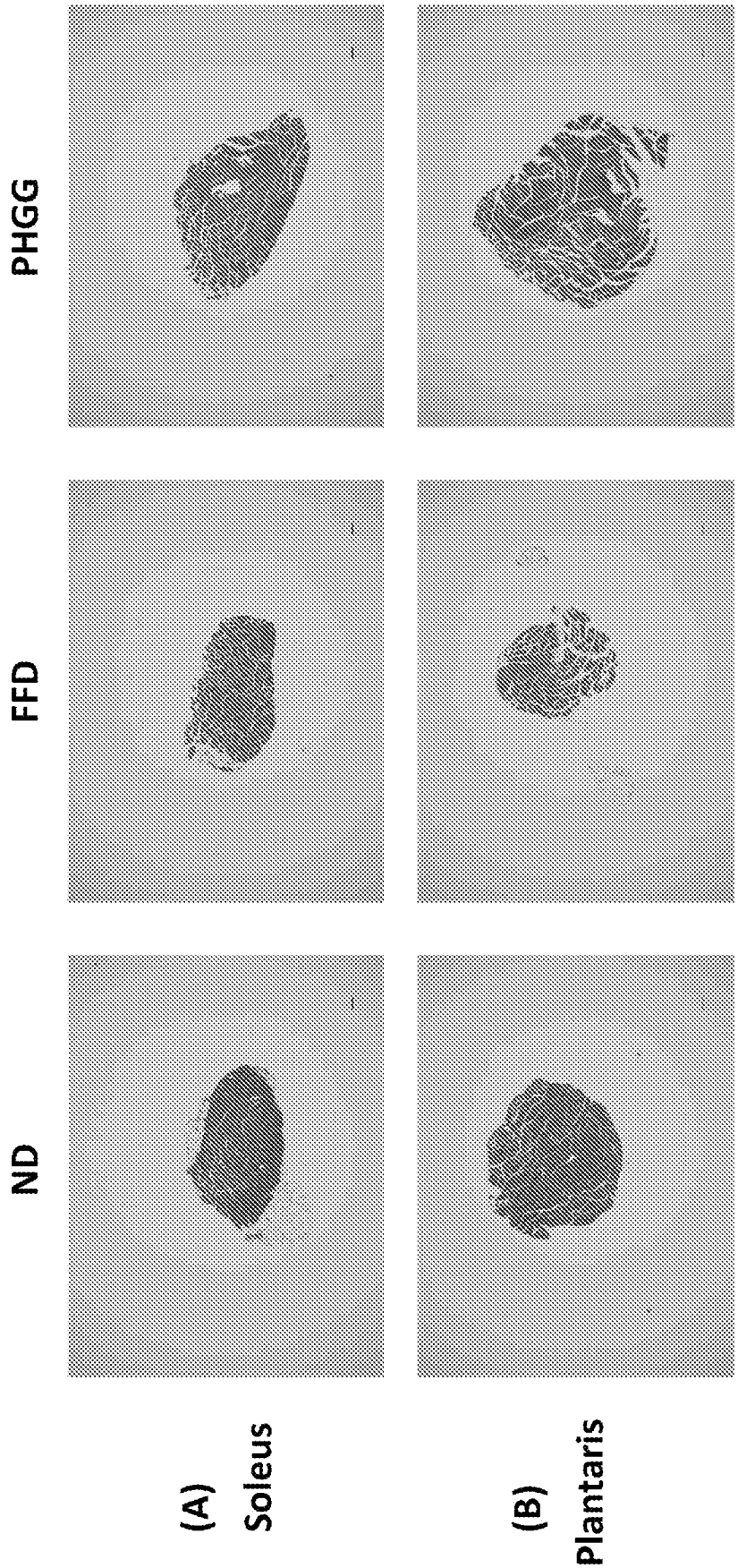
(A)


***
*
***
Plantaris weight (mg)
20
15
10
5
0
ND
FFD
PHGG

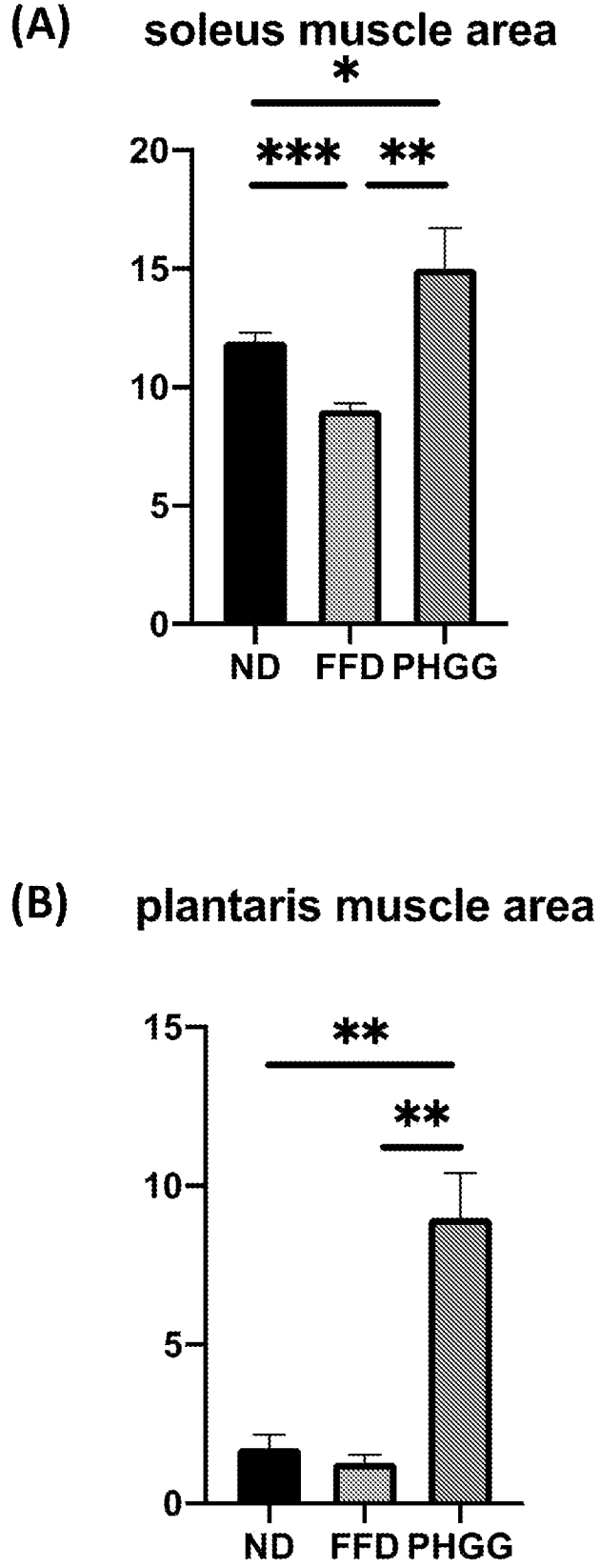
(B)


***
**
***
Plantaris weight/BW*1000
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
ND
FFD
PHGG

[図9]

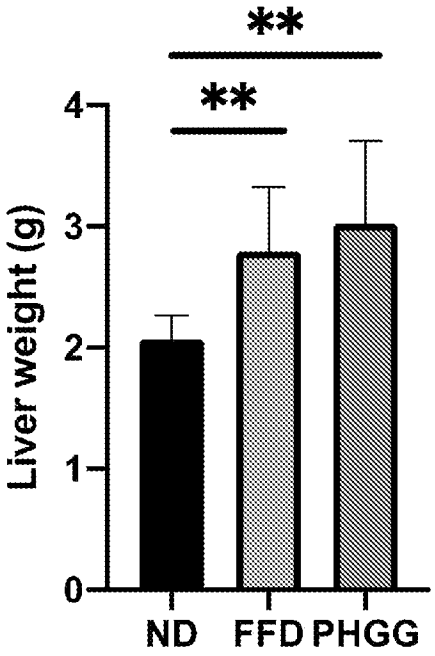


[図10]

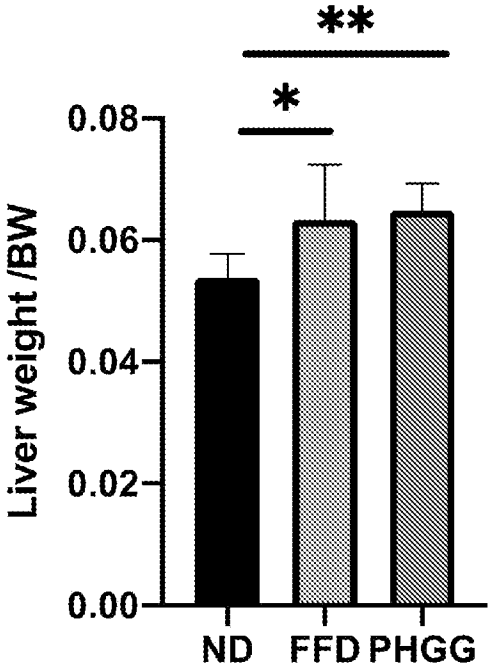

(A)
soleus muscle area
*
***
**
20
15
10
5
0
ND
FFD
PHGG
(B)
plantaris muscle area
**
**
15
10
5
0
ND
FFD
PHGG

[図11]

(A)

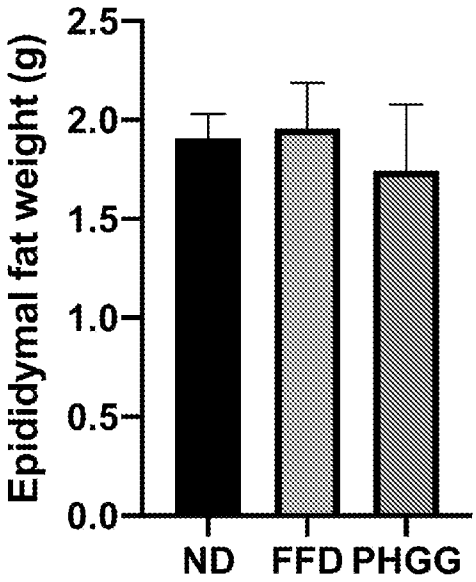

**
**
Liver weight (g)
0
1
2
3
4
ND
FFD
PHGG

(B)

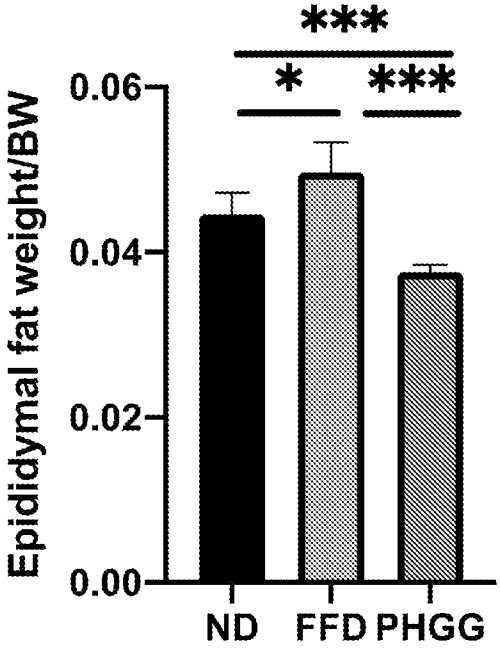

**
*
Liver weight /BW
0.00
0.02
0.04
0.06
0.08
ND
FFD
PHGG

[図12]

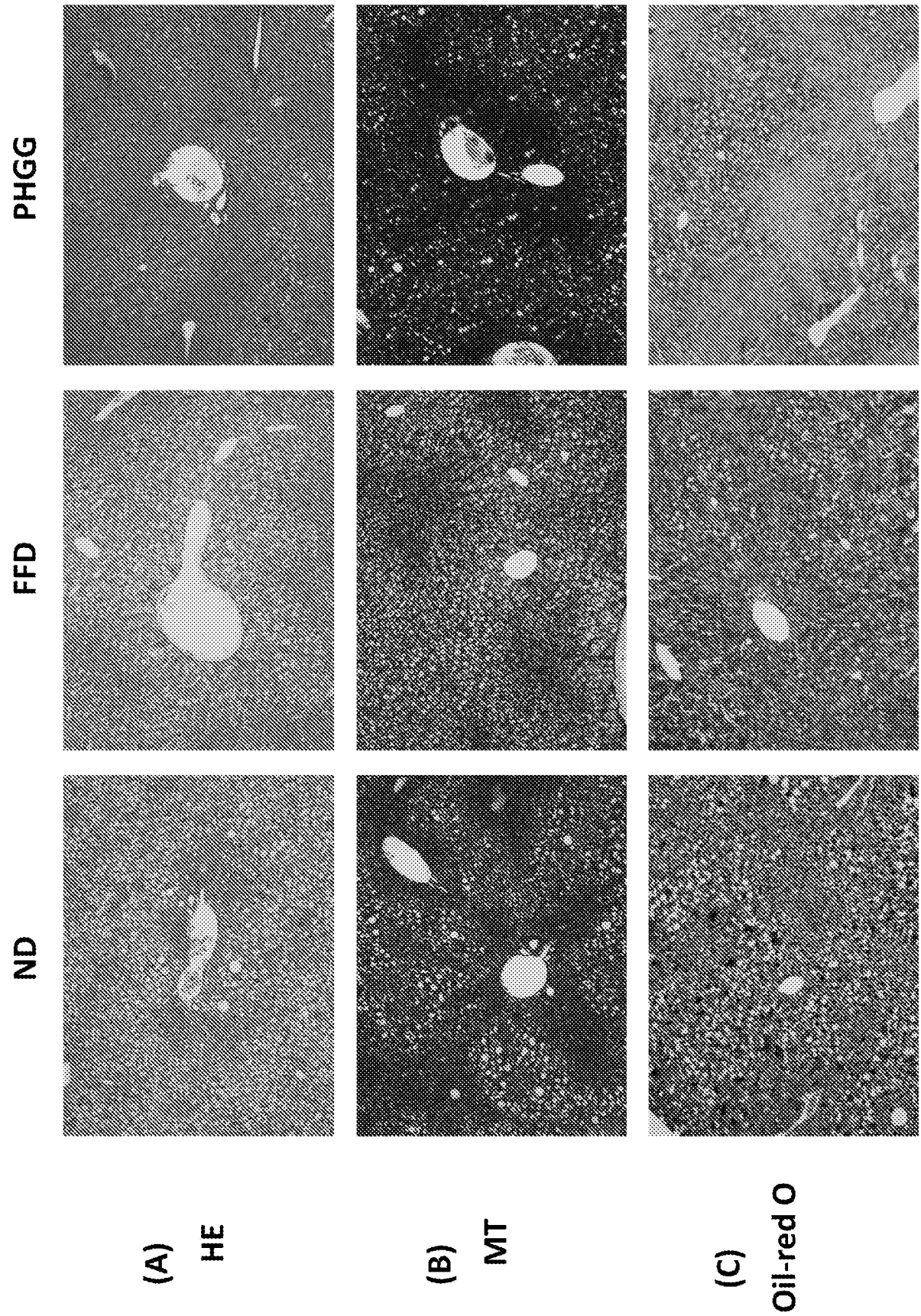
(A)


Epididymal fat weight (g)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
ND
FFD
PHGG

(B)

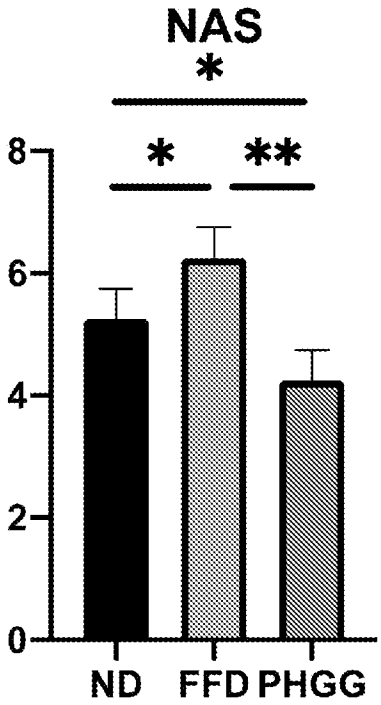

***
*
***
Epididymal fat weight/BW
0.06
0.04
0.02
0.00
ND
FFD
PHGG

[図13]

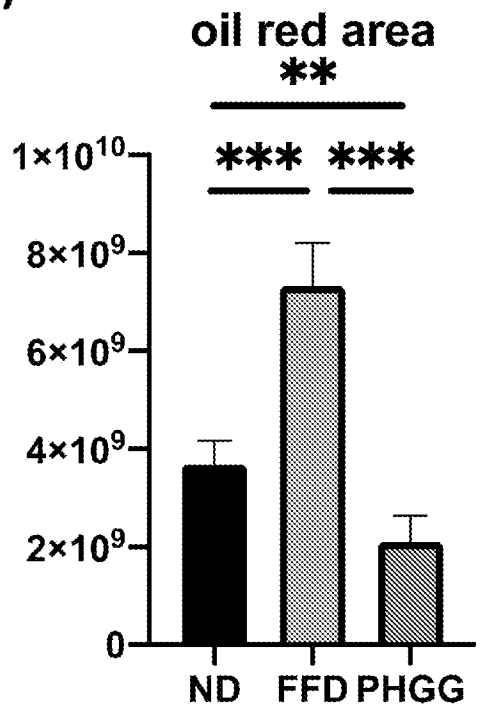


[図14]

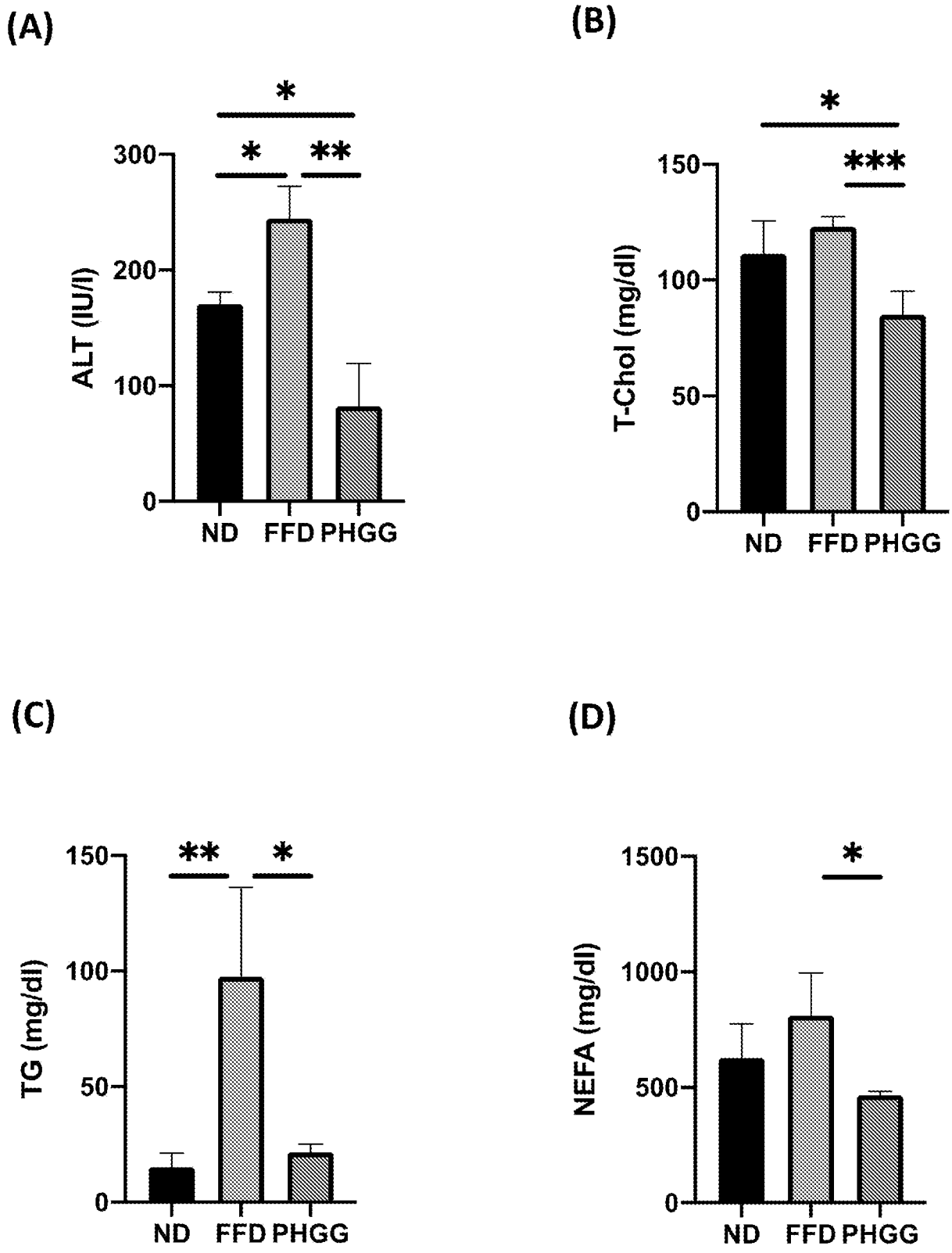
(A)


NAS
*
*
**
8
6
4
2
0
ND
FFD
PHGG

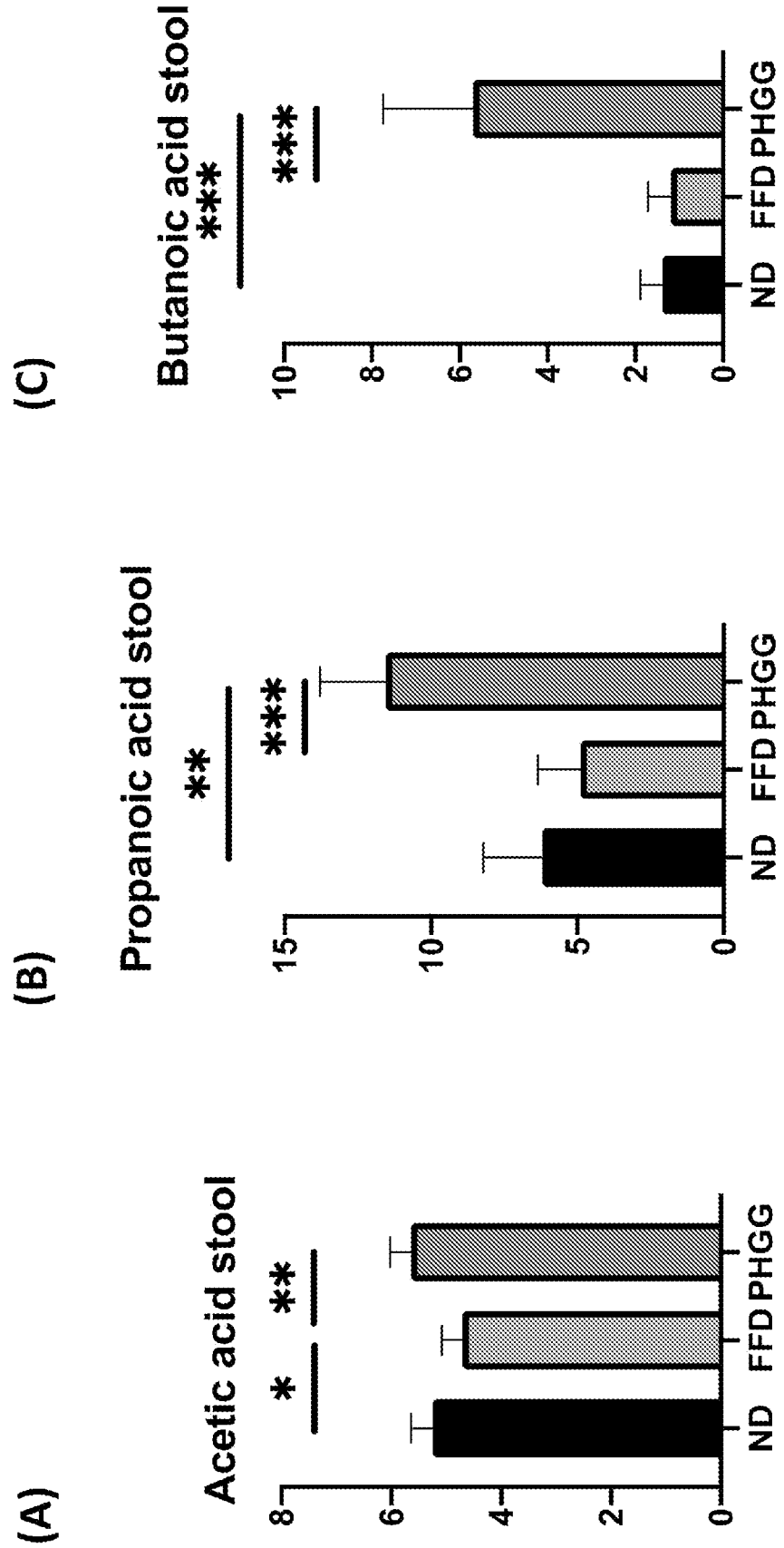
(B)


oil red area
**
***
***
1×10^10
8×10^9
6×10^9
4×10^9
2×10^9
0
ND
FFD
PHGG

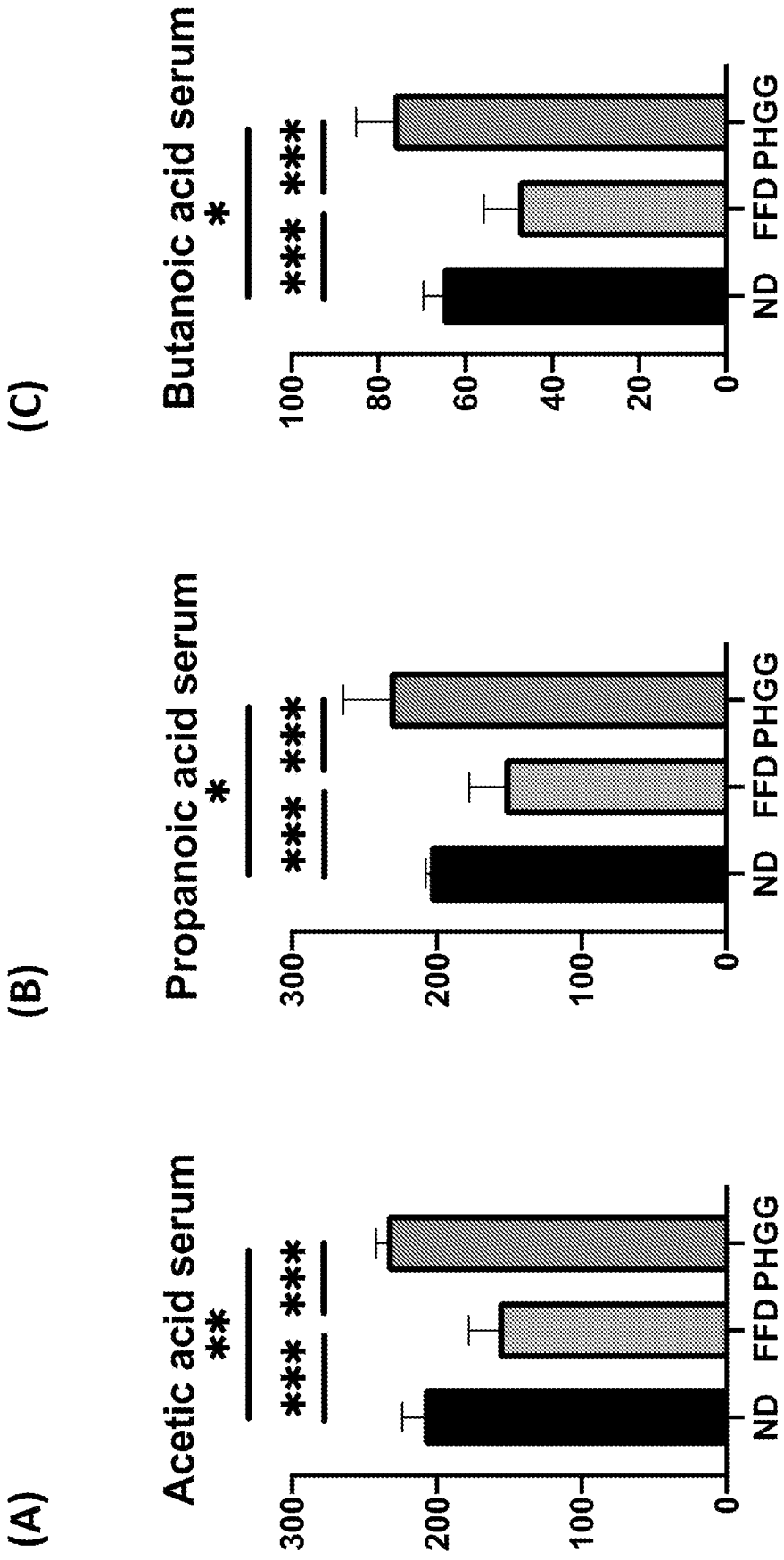
[図15]


(A)
ALT (IU/l)
300
200
100
0
*
*
**
ND
FFD
PHGG
(B)
T-Chol (mg/dl)
150
100
50
0
*
***
ND
FFD
PHGG
(C)
TG (mg/dl)
150
100
50
0
**
*
ND
FFD
PHGG
(D)
NEFA (mg/dl)
1500
1000
500
0
*
ND
FFD
PHGG

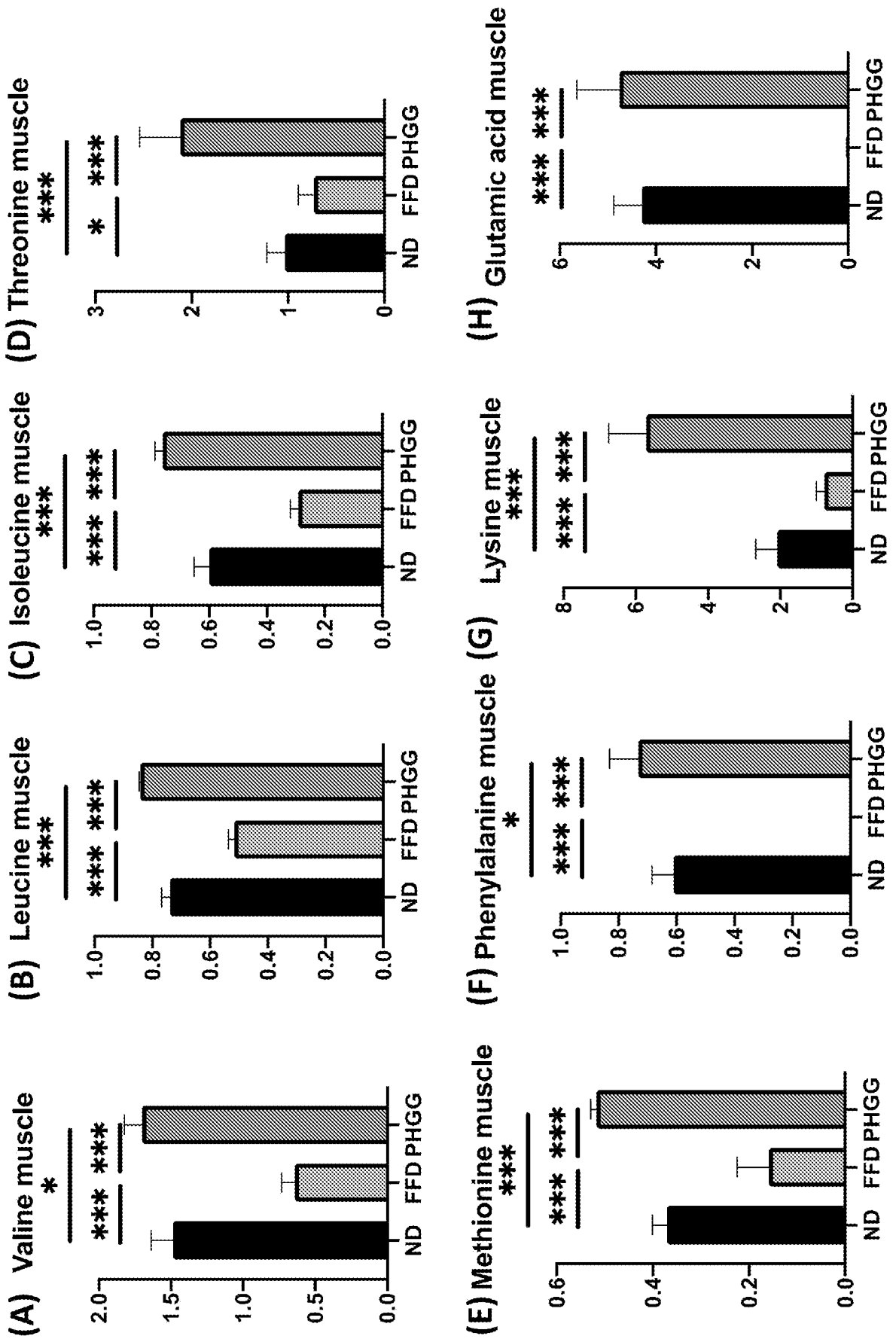
[図16]


(A)
Acetic acid stool
*
**
0
2
4
6
8
ND
FFD
PHGG
(B)
Propanoic acid stool
**
***
0
5
10
15
ND
FFD
PHGG
(C)
Butanoic acid stool
***
***
0
2
4
6
8
10
ND
FFD
PHGG

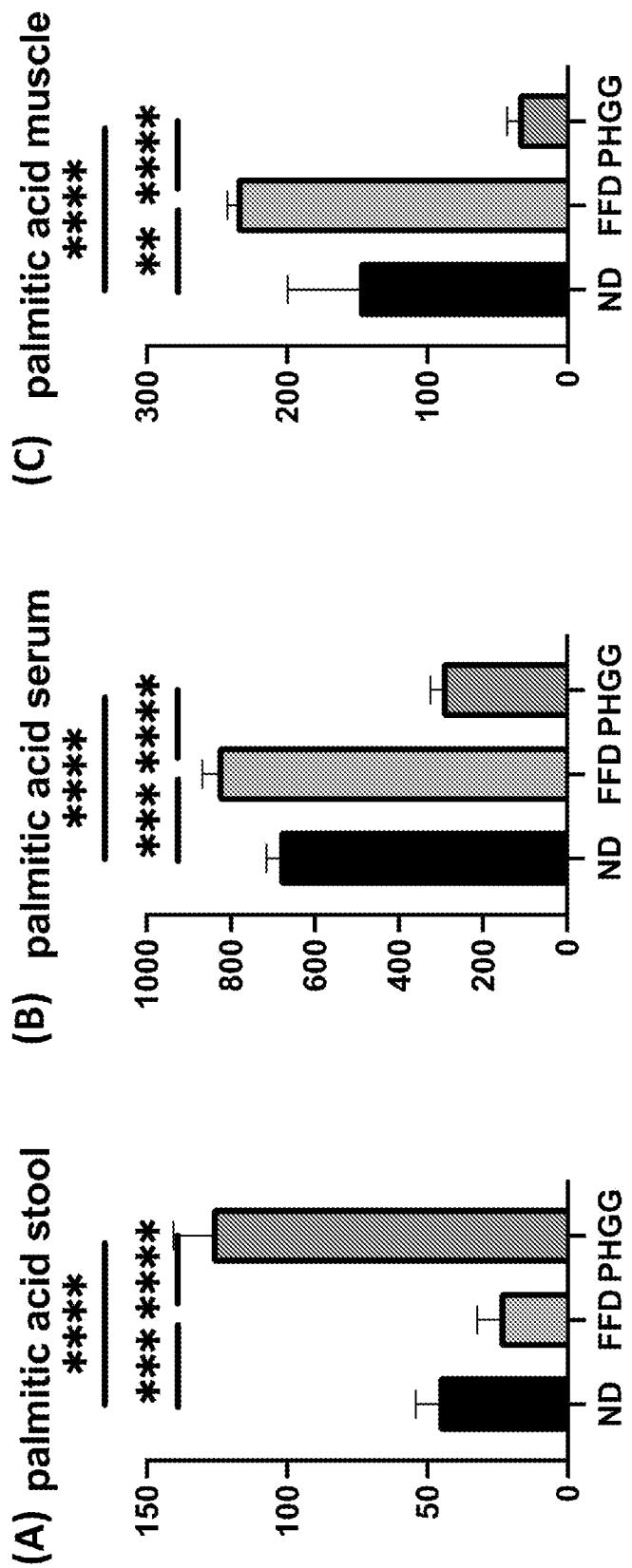
[図17]


(A)
Acetic acid serum
**
****
****
300
200
100
0
ND
FFD
PHGG
(B)
Propanoic acid serum
*
****
****
300
200
100
0
ND
FFD
PHGG
(C)
Butanoic acid serum
*
****
****
100
80
60
40
20
0
ND
FFD
PHGG

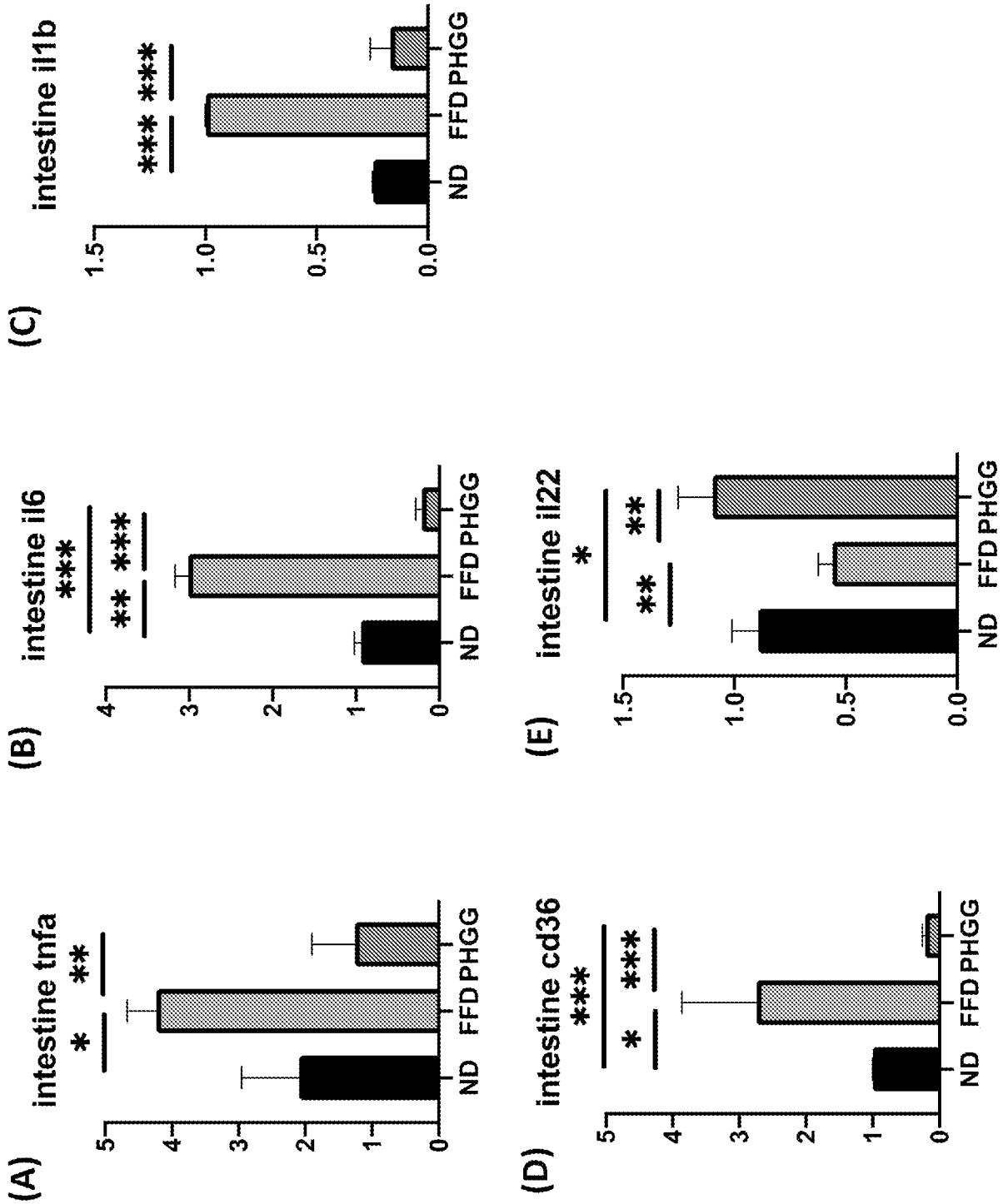
[図18]


(A) Valine muscle
(B) Leucine muscle
(C) Isoleucine muscle
(D) Threonine muscle
(E) Methionine muscle
(F) Phenylalanine muscle
(G) Lysine muscle
(H) Glutamic acid muscle
ND
FFD
PHGG

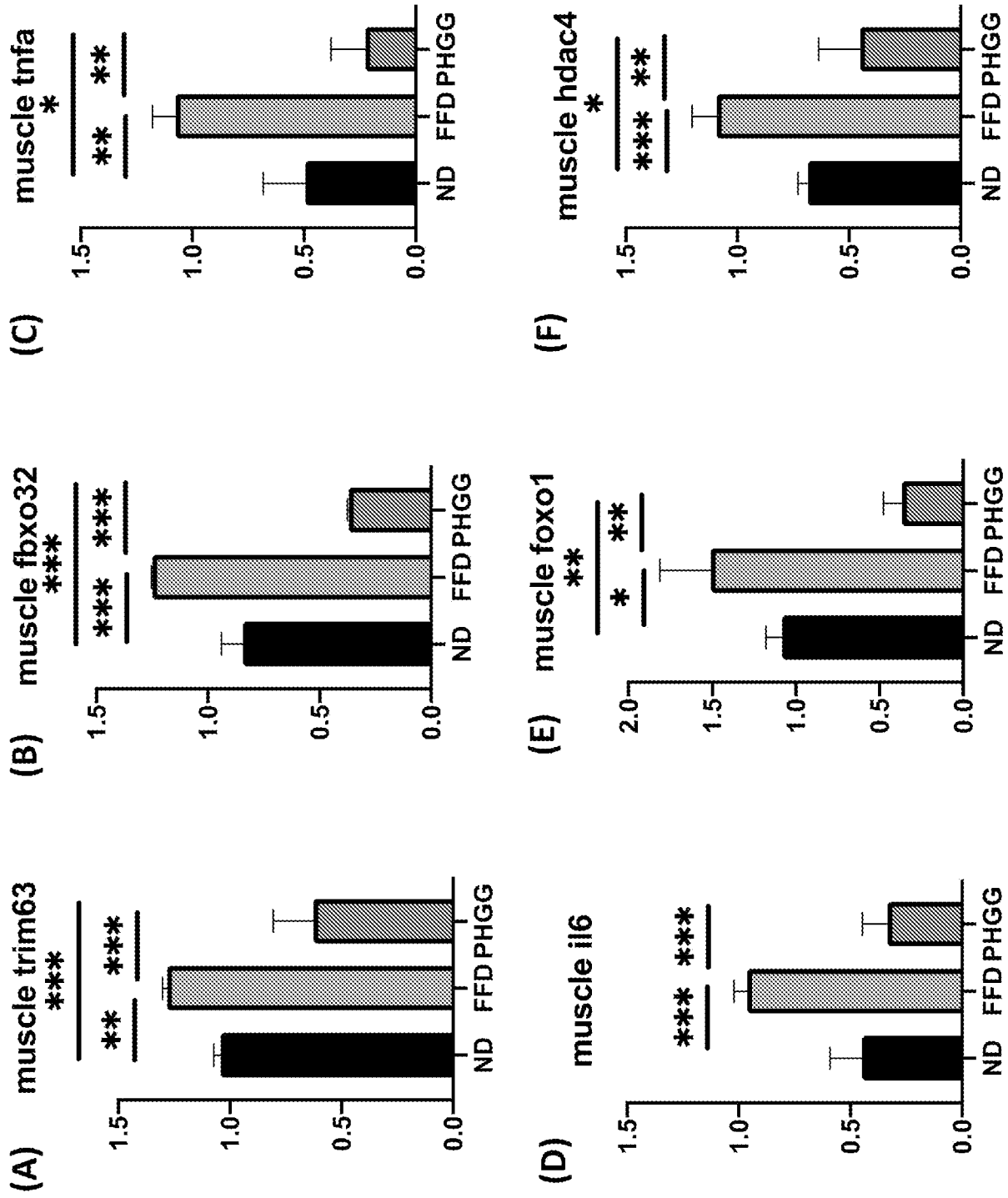
[図19]


(A) palmitic acid stool
(B) palmitic acid serum
(C) palmitic acid muscle
****
*****
ND
FFD
PHGG
0
50
100
150
200
400
600
800
1000
300

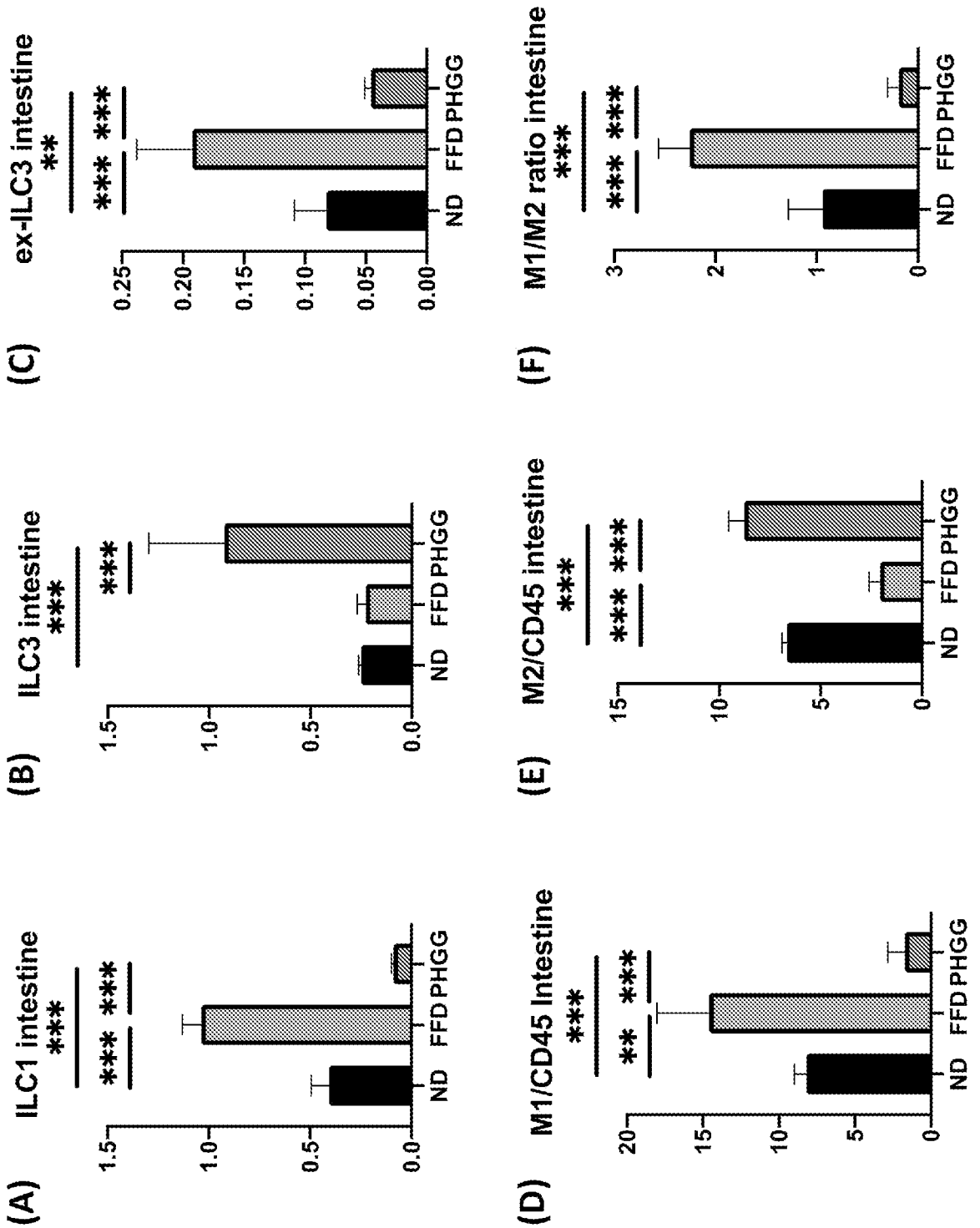
[図20]


(A)
intestine tnfa
*
**
5
4
3
2
1
0
ND
FFD
PHGG
(B)
intestine il6
***
**
***
4
3
2
1
0
ND
FFD
PHGG
(C)
intestine il1b
***
***
1.5
1.0
0.5
0.0
ND
FFD
PHGG
(D)
intestine cd36
***
*
***
5
4
3
2
1
0
ND
FFD
PHGG
(E)
intestine il22
*
**
**
1.5
1.0
0.5
0.0
ND
FFD
PHGG

[図21]


(A)
muscle trim63
(B)
muscle fbxo32
(C)
muscle tnfa
(D)
muscle il6
(E)
muscle foxo1
(F)
muscle hdac4
ND
FFD
PHGG

[図22]


(A)
ILC1 intestine
***
*** ***
1.5
1.0
0.5
0.0
ND FFD PHGG
(B)
ILC3 intestine
***
***
1.5
1.0
0.5
0.0
ND FFD PHGG
(C)
ex-ILC3 intestine
**
*** ***
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
ND FFD PHGG
(D)
M1/CD45 Intestine
***
** ***
20
15
10
5
0
ND FFD PHGG
(E)
M2/CD45 intestine
***
*** ***
15
10
5
0
ND FFD PHGG
(F)
M1/M2 ratio intestine
***
*** ***
3
2
1
0
ND FFD PHGG

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2022/035034

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 36/48(2006.01)i; ***A23K 10/30***(2016.01)i; ***A23L 33/125***(2016.01)i; ***A23L 33/17***(2016.01)i; ***A61P 3/04***(2006.01)i; ***A61P 21/00***(2006.01)i
FI: A61K36/48; A23L33/17; A23L33/125; A61P3/04; A61P21/00; A23K10/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K36/48; A23K10/30; A23L33/125; A23L33/17; A61P3/04; A61P21/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2022
Registered utility model specifications of Japan 1996-2022
Published registered utility model applications of Japan 1994-2022

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2012-162482 A (TAIYO KAGAKU CO., LTD.) 30 August 2012 (2012-08-30) particularly, claims, paragraphs [0007], [0008], [0019], [0025]	3-7
Y		1-7
X	JP 2012-162483 A (TAIYO KAGAKU CO., LTD.) 30 August 2012 (2012-08-30) particularly, claims, paragraphs [0007], [0008], [0016], [0025]	3-7
Y		1-7
Y	榊田智喜, 他, Gu-muscle axis を標的としたがんサルコペニア治療の可能性, 日本消化器病学会雑誌, 20 March 2021, extra edition (general meeting abstract collection), p. A163 (WS7-13), ISSN1349-7693, (Journal of Japanese Society of Gastroenterology.), non-official translation (SAKAKIDA, Tomoki et al. Potential treatment for cancer sarcopenia targeting the Gu-muscle axis.) particularly, whole	1-7
Y	JP 2009-72077 A (TAIYO KAGAKU CO., LTD.) 09 April 2009 (2009-04-09) particularly, paragraph [0002], claims	1-7

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
18 November 2022	**06 December 2022**
Name and mailing address of the ISA/JP **Japan Patent Office (ISA/JP)** **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Authorized officer Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2004/110174 A1 (TAIYO KAGAKU CO., LTD.) 23 December 2004 (2004-12-23) particularly, page 3, claims	1-7
Y	小原克彦, サルコペニア肥満, 日本老年医学会雑誌 (Japanese Journal of Geriatrics), 2014, vol. 51, no. 2, pages 99-108, non-official translation (KOHARA, Katsuhiko. Sarcopenic Obesity.) particularly, page 99, left column, introduction, right column, fifth paragraph, page 101, right column, first paragraph, page 99, left column, second paragraph, page 101, right column, fourth paragraph	1-7
P, X	JP 2022-111399 A (TAIYO KAGAKU CO., LTD.) 01 August 2022 (2022-08-01) particularly, claims 3-7	3-7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2022/035034

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 2012-162482 A	30 August 2012	(Family: none)	
JP 2012-162483 A	30 August 2012	(Family: none)	
JP 2009-72077 A	09 April 2009	(Family: none)	
WO 2004/110174 A1	23 December 2004	US 2007/0092631 A1 particularly, claims EP 1639903 A1 KR 10-2006-0020678 A CN 1809287 A	
JP 2022-111399 A	01 August 2022	(Family: none)	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2022/035034

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K 36/48(2006.01)i; A23K 10/30(2016.01)i; A23L 33/125(2016.01)i; A23L 33/17(2016.01)i; A61P 3/04(2006.01)i; A61P 21/00(2006.01)i
FI: A61K36/48; A23L33/17; A23L33/125; A61P3/04; A61P21/00; A23K10/30

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K36/48; A23K10/30; A23L33/125; A23L33/17; A61P3/04; A61P21/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２２年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２２年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２２年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X	JP 2012-162482 A (太陽化学株式会社) 30.08.2012 (2012-08-30) 特に、 特許請求の範囲、［０００７］、［０００８］、［００１９］、［００２５］	3-7
Y		1-7
X	JP 2012-162483 A (太陽化学株式会社) 30.08.2012 (2012-08-30) 特に、特許請求の範囲、［０００７］、［０００８］、［００１６］、［００２５］	3-7
Y		1-7
Y	榊田智喜、他, Gut-muscle axisを標的としたがんサルコペニア治療の可能性, 日本消化器病学会雑誌, 2021.03.20, 臨時増刊号(総会抄録集), p.A163 (WS7-13), ISSN1349-7693 特に、全体	1-7
Y	JP 2009-72077 A (太陽化学株式会社) 09.04.2009 (2009-04-09) 特に、[0002]、特許請求の範囲	1-7
Y	WO 2004/110174 A1 (太陽化学株式会社) 23.12.2004 (2004-12-23) 特に、p.3、特許請求の範囲	1-7

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
18.11.2022	06.12.2022

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
横田　倫子 4U 3764

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	小原克彦，サルコペニア肥満，日本老年医学会雑誌，2014，Vol.51 No.2，p.99-108 特に、p.99左欄はじめに、右欄第5段落、p.101右欄第1段落、p.99左欄2段落、p.101右欄4段落	1-7
P，X	JP 2022-111399 A（太陽化学株式会社）01.08.2022（2022－08－01） 特に、請求項3-7	3-7

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2022/035034

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2012-162482 A	30.08.2012	（ファミリーなし）	
JP 2012-162483 A	30.08.2012	（ファミリーなし）	
JP 2009-72077 A	09.04.2009	（ファミリーなし）	
WO 2004/110174 A1	23.12.2004	US 2007/0092631 A1 特に、Claims EP 1639903 A1 KR 10-2006-0020678 A CN 1809287 A	
JP 2022-111399 A	01.08.2022	（ファミリーなし）	